

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Pediatría



TESIS DOCTORAL

**Función pulmonar y proteína catiónica del eosinófilo en la
bronquiolitis
Estudio en la fase aguda de la bronquiolitis y durante el año
posterior**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

María Dolores González Caballero

Director

Ángel Nogales Espert

Madrid, 2015

22896

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



X-53-370807-8

Tesis Doctoral

**FUNCIÓN PULMONAR Y PROTEÍNA CATIÓNICA DEL EOSINÓFILO EN
LA BRONQUIOLITIS**

Estudio en la fase aguda de la bronquiolitis y durante el año posterior

Dolores González Caballero

Dirección:

Profesor Dr. D. Ángel Nogales Espert

Catedrático de Pediatría



Madrid, mayo de 1998

**DON ENRIQUE CASADO DE FRÍAS DIRECTOR DEL
DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA DE LA UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID.**

HACE CONSTAR:

Que D^a MARÍA DOLORES GONZÁLEZ CABALLERO
ha realizado el trabajo titulado "FUNCIÓN PULMONAR
Y PROTEÍNA CATIONICA DEL EOSINÓFILO EN LA
BRONQUIOLITIS. Estudio en la fase aguda de la
bronquiolitis y durante el año posterior", bajo la dirección
del PROFESOR ANGEL NOGALES ESPERT, miembro
de este Departamento.

Este estudio se encuentra finalizado y puede ser defendido
como TESIS DOCTORAL.



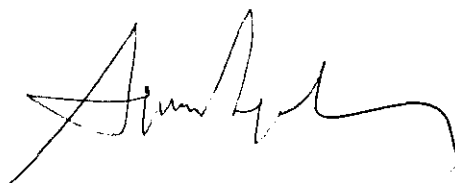
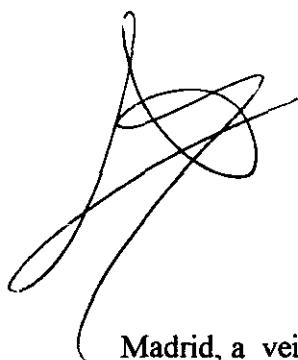
Madrid, a veintisiete de abril de mil novecientos noventa y
ocho

**DON ANGEL NOGALES ESPERT, CATEDRÁTICO DE PEDIATRÍA DE
LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, COMO DIRECTOR,
Y DOÑA GLORIA GARCÍA HERNANDEZ, PROFESORA ASOCIADA
DE PEDIATRÍA DE ESTA UNIVERSIDAD, COMO CO-DIRECTORA,**

HACEN CONSTAR:

Que D^a MARÍA DOLORES GONZÁLEZ CABALLERO
ha realizado el trabajo titulado "FUNCIÓN PULMONAR
Y PROTEÍNA CATIONICA DEL EOSINÓFILO EN LA
BRONQUIOLITIS. Estudio en la fase aguda de la
bronquiolitis y durante el año posterior", bajo la dirección
del PROFESOR ANGEL NOGALES ESPERT, miembro
de este Departamento.

Este estudio se encuentra finalizado y puede ser defendido
como TESIS DOCTORAL.



Madrid, a veintisiete de abril de mil novecientos noventa y
ocho

A mis padres por su cariño y buen ejemplo constantes y a mis doce hermanos en recuerdo de nuestros años de convivencia.

AGRADECIMIENTOS:

Al Profesor Don Ángel Nogales, por su atención solícita y sus útiles enseñanzas en todos los momentos de la realización de esta Tesis.

A Gloria García Hernández y a José Ramón Villa, ellos me animaron y alentaron en los comienzos de la Tesis. Les agradezco que hayan estado cerca siempre que lo he necesitado, por todos sus consejos y por la confianza puesta en mí. A Antonio Martínez por su paciente y eficazísima ayuda en el análisis estadístico de los datos de esta Tesis, sin él nunca hubiera podido acabar este trabajo. A Milagros Marín por todo lo que me ha enseñado durante mis años de formación en Alergia y Neumología Infantil. A todos ellos por los buenos ratos que hemos pasado juntos.

Al Profesor Don Enrique Casado que hizo posible que me iniciara en la Neumología Infantil, le agradezco también los años dedicados a nuestra formación en el Hospital de San Rafael.

A los pediatras que hicieron conmigo el Máster de Alergia y Neumología Infantil y en especial a Maite por su inestimable ayuda en el procesado de las muestras, a Inma, Carmen y Visi. Al personal del Área de hospitalización de Lactantes por su colaboración en el reclutamiento de los niños del estudio.

A todos mis compañeros del Hospital de San Rafael, especialmente a los hermanos de San Juan de Dios con los que trabajo codo con codo cada día, por su aliento en los momentos difíciles de la realización de este trabajo.

A la doctora Carmen Cabré, a Isabel Moreno y a Silvia Sevillano por descargarme de otras responsabilidades para que esta Tesis pudiera ser leída. También a Inma C., M^a Angus T., Adelaida R. y María S, ellas me han ayudado de una manera muy especial en estos años con su cercanía, enseñanzas y cariño.

A Ana Agudo, por su gran ayuda en la organización de las referencias bibliográficas de esta Tesis, le agradezco su buen humor frente a las dificultades que ha llevado consigo ese trabajo.

A Inés López-Dóriga le agradezco su hospitalidad, que ha significado una importante ayuda para mí en los últimos meses de la realización de este trabajo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
I.1. Bronquiolitis	4
I.1.1. Concepto.....	4
I.1.2. Epidemiología	5
I.1.3. Mortalidad	7
I.1.4. Etiología	7
I.1.5. Anatomía patológica	9
I.1.6. Fisiopatología	10
I.1.7. Patogenia	11
a) Desarrollo de la inmunidad local	12
b) Desarrollo de la inmunidad humoral	14
c) Respuesta inmune mediada por células	19
d) Consideraciones anatómicas	20
I.1.8. Diagnóstico	21
I.1.9. Tratamiento	23
I.1.10. Prevención	27
I.1.11. Evolución posterior	28
I.1.12. Bronquiolitis y asma	30
I.1.13. Sibilancias en la lactancia	34
I.1.14. Asma	36
I. 2. Marcadores de la inflamación bronquial	38
I. 2.1. Generalidades	38
I.2.2. Eosinófilo	40
a) Origen y diferenciación	41
b) Morfología	42
c) Gránulos citoplásmicos	42

d) Proteínas básicas del eosinófilo	43
e) Sustancias sintetizadas de novo	47
f) Receptores de membrana	49
g) Heterogenicidad de los eosinófilos	52
h) Activación y degranulación del eosinófilos	53
i) Reclutamiento de eosinófilos	56
j) Interacción con otras células	57
I. 2. 3. Proteína catiónica eosinofílica en la inflamación bronquial	61
a) Papel de la proteína catiónica del eosinófilo en el asma	62
b) ECP y asma en la infancia	63
c) Niveles de ECP en la bronquiolitis y sibilancias del lactante	66
d) Determinación de ECP in vitro	66
I.3. Pruebas de Función pulmonar en el lactante	68
I.3.1. Técnicas para la medida de la función espiratoria	70
a) Espiración parcial forzada con chaquetilla neumática	72
b) Medida de la curva de flujo volumen tidal	80
I.3.2. Técnicas para la medida de la distensibilidad y la resistencia	81
a) Tipo de pruebas	83
b) Valores de referencia	86
II. OBJETIVOS	87
III. MATERIAL Y MÉTODOS	89
III. 1. Selección de pacientes	90
III. 1. 1. Criterios de inclusión	90
III. 1. 2. Criterios de exclusión	91
III. 1. 3. Características demográficas del grupo	91
III. 2. Estudios realizados	92
III. 2. 1. Exploración clínica	92

III. 2. 2. Medición de la saturación de oxígeno	95
III. 2. 3. Determinación de niveles de “Proteína catiónica del Eosinófilo” en suero: s-ECP	95
III. 2. 4. Estudio del VRS en secreciones naso-faríngeas	96
III. 2. 5. Pruebas de función pulmonar	97
a) Aparataje	97
b) Sedación con hidrato de cloral	103
c) Realización de las pruebas de función pulmonar	104
III. 2. 6. Fases del trabajo	109
III. 2. 7. Método estadístico	109
a) Recursos informáticos	109
b) Estadística descriptiva	109
c) Comparación de variables	110
IV. RESULTADOS	111
IV. 1. Resultados del grupo de lactantes en el episodio agudo de bronquiolitis	112
IV. 1. 1. Puntuación clínica. Saturación de O ₂ . Pruebas de función pulmonar basales: V _{maxFRC} , distensibilidad y resistencia. ECP. VRS en la fase aguda de la bronquiolitis	112
IV. 1. 2. Respuesta al broncodilatador en la puntuación clínica, saturación de O ₂ y pruebas de función pulmonar en la fase aguda de la bronquiolitis	115
IV. 1. 3. Relación de los valores de % V _{maxFRC} del previsto basal y respuesta al broncodilatador en la fase aguda de bronquiolitis con los valores de ECP	120
IV. 1. 4. Relación de los valores de saturación de O ₂ con las pruebas de	

función pulmonar basal, % $V_{\max FRC}$ del previsto, en la fase aguda de la bronquiolitis y respuesta al broncodilatador	121
IV. 1. 5. Relación de los valores de la puntuación clínica con las pruebas de Función Pulmonar % $V_{\max FRC}$ del previsto basal y respuesta al broncodilatador en el episodio agudo de bronquiolitis	122
IV. 1. 6. Relación de los valores de la puntuación clínica con los valores de ECP.....	123
IV. 1. 7. Relación de la saturación de O_2 basal y después del broncodilatador con los valores de ECP	124
IV. 2. Resultados del grupo de pacientes durante el año posterior al episodio agudo de bronquiolitis	126
IV. 2. 1. Descripción del grupo de pacientes durante el año siguiente al episodio agudo de bronquiolitis	126
IV. 2. 2. Características demográficas	126
IV. 2. 3. Evolución clínica	127
IV. 2. 4. Pruebas de Función Pulmonar	128
a) Valores de $V_{\max FRC}$	128
b) Valores de la distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs}) ...	136
c) Valores de la resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs})	137
IV. 2. 5. Valores de ECP sérica	138
IV. 2. 6. Valores de $V_{\max FRC}$ en relación con la evolución clínica	141
IV. 2. 7. Relación de los valores de ECP con los valores de función pulmonar	146
IV. 2. 8. Relación de los valores de ECP con la evolución clínica	147
V. COMENTARIOS	149
V. 1. Alteraciones en el grupo de pacientes en el episodio agudo de bronquiolitis..	150
V. 1. 1. VRS en secreciones nasofaríngeas	151
V. 1. 2. Sedación con hidrato de cloral	151

V.1. 3. Puntuación clínica	153
a) Puntuación clínica basal	154
b) Puntuación clínica tras salbutamol	155
V. 1. 4. Oximetría	159
V. 1. 5. Pruebas de función pulmonar	160
a) Valores de $V_{\max FRC}$	162
b) Valores de la distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs}) ..	169
c) Valores de la resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs})	169
V. 1. 6. ECP en el episodio agudo	170
V. 1. 7. Relación de los valores de la puntuación clínica y de la saturación de O ₂ con las pruebas de función pulmonar: $V_{\max FCR}$	172
V. 1. 8. Relación de los valores de $V_{\max FCR}$ con los valores de ECP	173
V. 1. 9. Relación de los valores de la puntuación clínica y saturación de O ₂ con los valores de ECP	174
V. 2. Pacientes estudiados al año del episodio agudo de bronquiolitis	174
V. 2. 1. Evolución clínica al año del episodio agudo de bronquiolitis	175
V. 2. 2. Evolución de la Función Pulmonar en el primer año	176
a) Evolución de $V_{\max FRC}$	177
b) Evolución de la distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs})	180
c) Evolución de la resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs})	180
V. 2. 3. Valores de ECP durante al primer año del episodio agudo de bronquiolitis	181
V. 2. 4. Relación de $V_{\max FRC}$ con la evolución clínica	182
V. 2. 5. Relación de los valores de ECP y $V_{\max FRC}$	183
V. 2. 6. Relación de los valores de ECP con la evolución clínica	184
V. 3. Nuevas perspectivas a partir de este estudio	184
VI. CONCLUSIONES	187
VII. BIBLIOGRAFÍA	190

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La bronquiolitis es una enfermedad frecuente en los primeros dos años de vida, causada por un agente vírico que provoca una infección que afecta a los bronquiolos. Suele aparecer de forma epidémica durante los meses fríos del año, siendo una de las causas más importantes de consulta en los Servicios de Urgencia pediátricos y uno de los principales motivos de hospitalización en los lactantes.

Entre los niños que han padecido bronquiolitis, un número considerable desarrolla posteriormente patología bronquial, con episodios de disnea y sibilancias recidivantes al menos durante 1 a 3 años después del episodio, habiéndose especulado que la bronquiolitis podría iniciar un proceso de sensibilización alérgica que daría lugar a una persistente hiperreactividad bronquial^{1,2} y al padecimiento de un asma verdadero.

Es de gran interés poder determinar si un grupo de éstos niños con bronquiolitis desarrollará asma en el futuro, así como encontrar un posible “marcador” de la bronquiolitis que nos indique cuales serán estos niños, a fin de iniciar un tratamiento precoz.

Asistimos en la actualidad a un claro aumento de la incidencia del asma, enfermedad que conlleva importantes costes en tratamiento y absentismo escolar y laboral y a un aumento de la mortalidad. En los últimos años se ha comprobado que la inflamación bronquial es el principal factor responsable del asma. Este proceso inflamatorio se inicia frecuentemente durante la infancia, instaurándose de manera definitiva en la edad adulta.

Recientemente se ha venido afirmando que en la fisiopatología de la inflamación de la vía aérea del asmático participan diversas células que, a través de sus mediadores, perpetúan el proceso inflamatorio. Una de estas células es el eosinófilo que, mediante una serie de sustancias almacenadas en su interior, ataca al epitelio bronquial y contribuye a mantener la inflamación. De las proteínas que provocan esta inflamación la Proteína Catiónica del Eosinófilo (ECP) es el principal mediador inflamatorio del asma. Estudios recientes, muestran una buena correlación entre la gravedad del asma y los niveles de la Proteína Catiónica del Eosinófilo en fluidos ^{3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12}.

Para valorar el grado de obstrucción bronquial del paciente asmático, la principal herramienta con que contamos es la espirometría. Esta prueba precisa de la colaboración del paciente, para su realización, lo cuál es un obstáculo importante en la edad pediátrica. Recientemente se han desarrollado sistemas sofisticados capaces de medir los aspectos más importantes de la función pulmonar con técnicas poco agresivas que aportan un gran rendimiento diagnóstico y que permiten su aplicación incluso desde la etapa neonatal ^{13, 14}.

Por todo lo anteriormente expuesto, en la presente Tesis Doctoral, nos proponemos evaluar la función pulmonar y los niveles de proteína catiónica del eosinófilo en los lactantes que han padecido bronquiolitis y determinar si constituyen marcadores pronósticos de desarrollo de patología bronquial, a lo largo del primer año que sigue a la bronquiolitis.

I. 1. BRONQUIOLITIS

I. 1. 1. Concepto

La bronquiolitis es una enfermedad respiratoria aguda, cuyo significado estricto es inflamación de los bronquiolos.

Haciendo un somero recorrido histórico, probablemente la primera definición de bronquiolitis fue hecha por Holt en una monografía publicada en 1898 ¹⁵. Se refería a una forma severa de bronquitis catarral en niños, que afectaba a la pequeña vía aérea a la cual llamó “bronquitis capilar”. Observó en piezas de autopsia, una inflamación aguda en el pulmón y un gran atrapamiento aéreo en su interior. Ya en los primeros años de éste siglo ésta enfermedad fue reconocida como parte de los hallazgos patológicos de pacientes con sarampión, gripe o tosferina, pero aún no fue considerada como una enfermedad con entidad propia. Se le aplicaron otros nombres como bronconeumonía intersticial, bronquiolitis obstructiva aguda, bronquiolitis asmática o neumonitis intersticial ^{15, 16}. Los primeros que usaron el término bronquiolitis fueron Engle y Newns, cuando en 1940 describieron una grave y a menudo fatal enfermedad de la vía aérea periférica, que afectaba a niños pequeños, sugiriendo que la etiología podría ser viral ^{15, 16}.

La bronquiolitis se define como un primer episodio agudo de sibilancias, en el contexto de un cuadro respiratorio de origen vírico, que afecta a niños de menos de dos años, preferentemente durante el primer año. No todos los autores están de acuerdo con este concepto y, aunque se han realizado importantes esfuerzos al respecto aún no se ha llegado a un acuerdo acerca de los criterios necesarios para hacer el diagnóstico. Algunos definen la bronquiolitis como un cuadro agudo de

sibilancias, que afecta a un niño previamente sano, que acompaña a una enfermedad vírica respiratoria aguda. Otras definiciones, consideran más importante la aparición de taquipnea, hiperinsuflación y crepitantes sin atender a su causa. La utilización de distintos criterios clínicos para definir la bronquiolitis hace difícil establecer comparaciones entre los diferentes estudios publicados, particularmente en lo relacionado con los efectos a largo plazo ¹⁶.

I. 1. 2. Epidemiología

Aunque hay una gran cantidad de agentes etiológicos que pueden causar bronquiolitis, el germen más frecuente y al que se refieren una gran mayoría de las publicaciones, es el virus respiratorio sincitial (VRS) ^{16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25}.

El virus respiratorio sincitial puede causar infección respiratoria de vías altas, dando lugar a un catarro común, o afectar a la vía aérea inferior, dando lugar a bronquitis, bronquiolitis o neumonía ¹⁶. Otros agentes etiológicos víricos de la bronquiolitis incluyen el parainfluenza, adenovirus, influenza y mycoplasma pneumoniae ²⁶.

Como el resto de las viriasis respiratorias, la infección por VRS, tiene un pico de incidencia en los meses de invierno y principio de primavera, aunque puede haber casos a lo largo de todo el año ²². La duración media de la epidemia es de 5 meses, dejando intervalos cortos entre ellas de 7 a 12 meses o largos de 13 a 16 meses ¹⁶.

La mayor incidencia de edad se encuentra entre los 2 y 6 meses, siendo doble que la encontrada entre los 6 y 12 meses ²². En cuanto a la distribución por edades, en áreas urbanas el pico máximo de bronquiolitis causada por VRS, se sitúa a los 2 meses ¹⁷. Los adultos también se infectan, siendo aproximadamente el 17% de los

afectados en una epidemia. En el ambiente hospitalario, cerca del 50% del personal que trabaja en el hospital, adquiere la infección durante la epidemia, aunque los síntomas clínicos que el virus provoca en los adultos y niños mayores se reducen exclusivamente a un catarro de vías altas. Así mismo los niños ingresados, por otros motivos, tienen un mayor riesgo de enfermar por la infección nosocomial ²⁷.

La bronquiolitis es una de las principales causas de admisión hospitalaria en niños de menos de 1 año ²⁸ y aproximadamente entre el 60% y 90% de los casos que son hospitalizados, se deben a VRS, aunque el cuadro clínico es indistinguible del causado por rinovirus, adenovirus o parainfluenza. Diez de cada 1000 niños, precisan ser hospitalizados por bronquiolitis, durante su primer año de vida. Después de la primera exposición al VRS se infectan el 98% de los niños, en la 2ª exposición el 75% y en la tercera el 65%, siendo ésta tercera considerablemente más leve en cuanto a severidad de los síntomas ²⁹. A los 2 años de edad el 95% de los niños tiene anticuerpos frente al VRS. A pesar de ello la reinfección es frecuente a cualquier edad. Sólo el 40% de los lactantes que se infectan con el VRS, desarrollan una clínica compatible con bronquiolitis ^{16, 22}.

Cuando se afecta un miembro de una familia, las posibilidades de que otros contraigan la infección son de cerca del 45%, siendo los niños los principales causantes de la entrada del virus en el entorno familiar ¹⁹. Con respecto a la incidencia según sexos, es igual para ambos, pero las bronquiolitis más severas ocurren más frecuentemente en varones ²².

La transmisión del virus, como es habitual en las viriasis respiratorias, se realiza a través de las gotitas de Pflügge que contaminan superficies y manos ³⁰. Por ello el manejo, sobre todo, de guantes y también, aunque en menor medida, de ropa reduce la infección nosocomial. El VRS se mantiene un promedio de 9 días en el tracto

respiratorio, pudiendo mantenerse niveles altos de VRS en secreciones nasales varios meses después de la infección, sobre todo en niños con inmunodeficiencias.

I. 1. 3. Mortalidad

La mortalidad por bronquiolitis depende de la población a la que afecte. En los lactantes previamente sanos y con su sistema inmune competente la mortalidad es menor del 1% ^{20 y 15}. En los lactantes con bronquiolitis moderada-severa, que requieren ingreso hospitalario, la mortalidad oscila entre el 1% y el 7%.

Esta mortalidad aumenta al 15% en niños inmunodeprimidos por tratamiento quimioterápico y al 40% de aquellos con inmunodeficiencias primarias. Los niños que padecen hipertensión pulmonar presentan un riesgo elevado, con una mortalidad que aumenta por encima del 70%. Los prematuros o niños que adquieren la infección en el periodo neonatal, tienden a presentar una enfermedad más grave ¹⁹. La morbi-mortalidad de niños con displasia broncopulmonar está también incrementada situándose entorno al 30% en éste grupo de riesgo ^{15, 20}. Se ha descrito una marcada correlación entre la incidencia de VRS en una comunidad y la muerte súbita del lactante. El virus ha sido demostrado en un tercio de muertes en la cuna por encima de los tres meses de edad ¹⁸.

I. 1. 4. Etiología

El cuadro clínico de la bronquiolitis del lactante puede ser causado por una gran variedad de agentes infecciosos cuyo principal representante es el VRS. Entre el 60 y el 90% de las bronquiolitis se deben a dicho agente ^{16, 19, 31}. Ya desde 1940 se

sospechó la etiología vírica de la bronquiolitis ^{16, 18,19, 15 y 32} . Con el desarrollo de técnicas de inmunofluorescencia ha podido establecerse que el VRS es el causante de, al menos, el 75% de los ingresos hospitalarios por bronquiolitis. Con dicha técnica se identifican, rápidamente, en las secreciones nasofaríngeas los antígenos virales, gracias a una técnica que utiliza para su determinación anticuerpos monoclonales. También puede hacerse el diagnóstico por medio de cultivo, pero es más laborioso y los resultados se demoran al menos 7 días ². Por último con el estudio serológico determinando la seroconversión, se puede también realizar el diagnóstico.

El VRS es un patógeno humano, responsable de un gran espectro de enfermedades que afectan exclusivamente al tracto respiratorio de personas de todas las edades y en todas partes del mundo. Fue aislado por primera vez por Morris en 1956 ¹⁶, en el chimpancé y se le denominó agente del catarro del chimpancé (chimpancé coryza agent: CCA). Más tarde se aisló en niños infectados por el virus ³². Los primeros en identificarlo como agente causante de la bronquiolitis fueron Chanock y cols. ¹⁶, quienes asociaron el virus con la enfermedad. Posteriormente el virus respiratorio sincitial, como fue más tarde llamado, se halló como el agente responsable de un considerable número de enfermedades respiratorias en los niños. El VRS es un virus RNA de la familia de los Paramixovirus y está formado por partículas de aproximadamente 80-500 nm de diámetro. El genoma del virus es de 5×6^{10} Dalton. La superficie exterior de la cubierta del virus tiene dos tipos de receptores celulares. Están compuestos por dos glicoproteínas, F y G y probablemente una tercera la SH, neutralizables por anticuerpos específicos ³² .

Se pueden distinguir dos subtipos de VRS, el tipo A y el B ³². Parece que el primero provoca una enfermedad más severa en los lactantes que el tipo B, un estudio realizado en Méjico, publicado en 1995 ²⁵, observó que en los 82 lactantes con

bronquiolitis que fueron ingresados, se aisló VRS subtipo A, en aquellos pacientes que asociaron a la bronquiolitis, neumonía y laringotraqueobronquitis. La diferencia entre ambos subtipos radica en la glicoproteína G. En modelos experimentales, se ha observado que hay una protección cruzada entre ambos tipos de VRS ¹⁸.

Otros agentes etiológicos que dan lugar a idénticos síntomas clínicos, indistinguibles de los producidos por el VRS ¹⁹, son el virus parainfluenza tipo 1 y sobre todo el tipo 3. Este es el segundo responsable de las bronquiolitis que precisan hospitalización. Otros agentes son el adenovirus, sobre todo los tipos 7, 3 y 21 y los rinovirus. De forma ocasional pueden dar lugar a un cuadro clínico similar a la bronquiolitis, la *Clamidia Trachomatis*, el *Mycoplasma pneumoniae* y los virus del sarampión, citomegalovirus y grupo coxackie.

I. 1. 5. Anatomía patológica

Por motivos obvios, es difícil disponer de muestras biópsicas que permitan realizar estudios anatomopatológicos en niños con bronquiolitis. Sin embargo sí se han realizado de autopsias en niños que murieron por ésta causa. El principal cambio patológico encontrado fue la inflamación aguda de los bronquiolos, cuyo diámetro estaba comprendido entre 300 y 75 μ . Podemos suponer que éstas alteraciones son similares a los de aquellos que se afectan menos gravemente y sobreviven.

Estos cambios consisten principalmente en una afectación del epitelio que es colonizado por virus. Los primeros cambios se aprecian entre las 18 y las 24 horas después de haberse iniciado la infección, pudiendo observarse áreas de necrosis del epitelio, de los neumocitos tipo II, que sintetizan y secretan el surfactante ²⁰.

También se observa destrucción del epitelio ciliado, que tapiza la vía aérea más periférica, cercana ya a la superficie de intercambio gaseoso. La afectación de este epitelio, da lugar a una disminución del aclaramiento mucoso, privando al pulmón del importante mecanismo de defensa que constituye el transporte mucociliar que impulsa el moco de las vías periféricas hacia la faringe. Se observa, además, un infiltrado inflamatorio, sobre todo a expensas de linfocitos, edema de la submucosa y aumento de la secreción de moco, todo lo cual contribuye al estrechamiento de la vía aérea con obstrucción de la luz bronquial, que ocasiona atrapamiento de aire y colapso lobular de intensidad variable ²⁰. En la mayoría de los casos no complicados el epitelio bronquiolar se regenera en 3-4 días, pero los cilios tardan en reaparecer dos o más semanas. No suele haber afectación de las fibras de elastina ni del músculo liso ¹⁶.

I. 1. 6. Fisiopatología

Las alteraciones anatomopatológicas descritas dan lugar a la obstrucción al flujo aéreo que, si es parcial, permite la entrada de aire mediante un mecanismo valvular por el que se dificulta su salida, dando así lugar a atrapamiento aéreo. Si la obstrucción es total dará lugar a una atelectasia en la zona de pulmón distal a la obstrucción. Coexistiendo así zonas de atelectasia y zonas de atrapamiento, con la correspondiente alteración ventilación-perfusión. Este hecho se acentúa debido a que en los lactantes, se da un deficiente desarrollo de las vías colaterales, como son los poros de Kohn, (orificios de entre 3 y 13 μ de diámetro) y los canales de Lambert, que ponen en comunicación alveolos adyacentes ¹⁷.

Estas alteraciones afectan a la concentración de gases sanguíneos, pudiendo observarse una disminución del nivel de oxígeno, así como retención de anhídrido

carbónico. La hipoxemia, que puede ser detectada por métodos sencillos ³³, es la alteración más frecuente y está estrechamente relacionada con la intensidad de la taquipnea. La retención de dióxido de carbono ocurre en niños gravemente enfermos, generalmente lactantes más jóvenes, algunos de los cuales requieren ventilación asistida ¹⁶.

En cuanto a la mecánica pulmonar, se ha descrito un aumento de la resistencia de la vía aérea, debido a la obstrucción al flujo de aire y disminución de la distensibilidad pulmonar, originada en parte por el atrapamiento aéreo que provoca un aumento de la capacidad funcional residual, FRC, con la consiguiente dificultad para expandir el pulmón ¹⁵.

I. 1. 7. Patogenia

Como consecuencia de la infección por VRS, que afecta al tracto respiratorio, tanto superior como inferior, tienen lugar una serie de respuestas a nivel local y sistémico, cuyos mecanismos conocemos de forma muy limitada. La respuesta a la infección es compleja, interviniendo todos los componentes del sistema inmune: linfocitos B con sus anticuerpos, sistema del complemento, mediadores de la inflamación, linfocitos T y otros tipos de células inmunocompetentes, formadas en el tejido linfoide asociado al bronquio (BALT: Bronchus Associated Lymphoid Tissue), situado en la lámina propia junto con los mastocitos, que junto con las amígdalas, tejido linfoide de nasofaringe y de las glándulas salivares, representan la fuente básica de producción de células específicas inmunes ³⁴.

a) Desarrollo de la inmunidad local.

Tras la penetración del virus a través del epitelio respiratorio, las células del sistema inmune local presentan el antígeno a las células inmunocompetentes del tracto respiratorio, localizadas en el BALT. Este tejido es un verdadero órgano linfoide que cuenta con un endotelio especializado, que permite el tráfico de linfocitos desde los capilares a la submucosa. Este tejido es, junto con el tejido linfoide intestinal (GALT: Gut Associated Lymphoid Tissue), la principal fuente de inmunoglobulinas, sobre todo de IgA y de linfocitos T, que median la respuesta inmunitaria desde el tracto digestivo y en el caso de BALT desde el tracto respiratorio.

Otras células implicadas en el mecanismo de defensa local son los mastocitos, localizados en el tejido subepitelial cuyo número va aumentando de la tráquea a los bronquios. Alrededor de la unión broncoalveolar predominan los macrófagos.

El desarrollo de las células que constituyen el BALT, aún no es bien conocido, pero se sabe que las células inmunocompetentes, aparecen al final del periodo neonatal y van aumentando en número, estimuladas por los diferentes antígenos provenientes de la luz del tracto respiratorio o de la circulación sanguínea, que pone en marcha la respuesta inmune local. Sin embargo, la magnitud de la respuesta varía significativamente de unos casos a otros. La mayoría de los linfocitos B, después de ser estimulados, se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Todo éste “dispositivo”, se justifica debido a que el tracto respiratorio está expuesto permanentemente a múltiples agentes infecciosos y a sustancias con potencial capacidad alérgica ³⁴.

El estudio de la respuesta inmune frente al VRS se ha centrado en el aspecto de la producción de anticuerpos a nivel local en el tracto respiratorio, o en suero. Más recientemente, se ha intentado profundizar en el estudio de la inmunidad celular en la que están imbricadas una gran variedad de células ³⁵, con sus correspondientes mediadores de la inflamación, que nos facilitan la identificación de las células que la originan. Además de los mecanismos inmunológicos citados, que provocan un aumento de mediadores de la inflamación, el efecto citotóxico directo del virus en el epitelio respiratorio, contribuye a la denudación del mismo ^{2, 35}.

Se especula con frecuencia acerca de si es la respuesta inmune o la eliminación del virus lo que hace que finalice la infección. El predominio de unos elementos sobre otros en la respuesta a la infección, depende de factores individuales. Algunas de éstas respuestas se pueden considerar normales y beneficiosas, porque resultan eficaces para proteger frente a la infección. Otras, por el contrario, son patológicas por dar lugar a una respuesta de hipersensibilidad, con el correspondiente daño tisular. Algunos estudios han sugerido que el mecanismo de desarrollo de hiperreactividad bronquial, es debido a una respuesta inmune alterada que se debe a factores individuales del huésped ³⁶.

La relación que existe entre la edad de los lactantes con infección y la magnitud de la respuesta al VRS no ha sido aún completamente aclarada. En cuanto a las alteraciones provocadas por el virus de forma directa, el VRS, causa una importante alteración en la estructura y homeostasis del epitelio respiratorio, con alteraciones en el transporte de iones a través de la barrera mucosa y a alteraciones en su actividad metabólica. De otra parte la activación de las células inmunes como son los linfocitos T y B, los macrófagos y las células efectoras del tracto respiratorio, puede contribuir a la patogénesis de la infección por VRS ³⁷.

La hipótesis de que algún mecanismo inmunológico sea responsable de la patogénesis de la enfermedad por VRS, se sugirió a finales de los años 60, cuando se comenzó a utilizar una vacuna de virus inactivados frente al VRS,. Los niños que habían sido vacunados y sufrieron una infección posterior por el VRS nativo, desarrollaron una enfermedad más grave, que aquellos que no estaban vacunados. A raíz de este hecho comenzaron a estudiarse los posibles mecanismos inmunopatogénicos de este fenómeno que podrían resumirse en tres.

El primero se refiere a la formación de complejos inmunes, IgG-antígeno, especialmente en ausencia de IgA secretora específica anti VRS. El segundo, a una respuesta de hipersensibilidad, mediada por IgE en niños atópicos. Y el tercero, a una reacción de hipersensibilidad mediada por células ³⁴.

La patogénesis de algunas de éstas respuestas inmunes se debe a su magnitud. Se ha demostrado que la infección por VRS y algunos otros pocos virus respiratorios, dan lugar a hiperreactividad bronquial y exacerbación de los episodios de asma en la infancia.

La inmunidad generada por el VRS se debe tanto a una respuesta mediada por anticuerpos, inmunidad humoral, como a la inmunidad celular.

b) Desarrollo de la inmunidad humoral.

1. Respuesta de Inmunoglobulina G (IgG): La IgG es una de las inmunoglobulinas que participa en el proceso inmune de la infección por VRS, que puede jugar un papel beneficioso, protector o mediar reacciones patológicas de hipersensibilidad.

Se ha encontrado una clara relación entre los niveles elevados de IgG4 específica frente a VRS y la aparición de sibilancias en los lactantes con infección por VRS. Estos niveles son más elevados durante la fase aguda y decaen después, en la convalecencia ³⁹. Un año después de haber padecido una infección por VRS, los títulos de IgG4, son más elevados en los niños que padecieron una forma severa de infección con bronquiolitis, que en los que sufrieron un proceso leve, sin bronquiolitis ni sibilancias ²³.

Por ello se podría suponer que hay una respuesta de hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos, característica de algunas enfermedades infecciosas, por la que se desarrolla, en algunos casos, una reacción de Arthus, que consiste en el depósito de inmunocomplejos en el pulmón ³⁸. Este tipo de respuesta inmune generada, con la fabricación de IgG o con la IgG procedente de la madre, no es efectiva para el control de la replicación del virus. Su papel en este caso es simplemente el de “combustible” para la formación y depósito de inmunocomplejos en la vía aérea.

En las autopsias de niños muertos por bronquiolitis, se han encontrado, en el tracto respiratorio inferior, partículas víricas de VRS e IgG de origen materno formando inmunocomplejos. Del mismo modo sucede en algunos lactantes vacunados de VRS que sufrieron una exposición posterior al virus nativo y desarrollaron una forma severa de enfermedad, encontrándose una elevada concentración de anticuerpos neutralizantes y fijadores de complemento así como una respuesta inmune celular frente a VRS ¹⁶. Estos complejos inmunes pueden favorecer la migración de células inflamatorias al pulmón.

La inflamación, con la consiguiente obstrucción de la vía aérea, producida por las células inflamatorias y sus mediadores proinflamatorios, es la que contribuye al desarrollo más o menos severo de enfermedad, en la infección por VRS ³⁴. Sin

embargo otra teoría apoya la hipótesis del papel protector de los anticuerpos neutralizantes en la prevención frente al VRS ¹⁶.

Junto a todo lo anterior, se pueden añadir datos aislados que no confirman ni contradicen lo anterior que estarían relacionados con el tipo de respuesta individual, y no predicen el curso clínico posterior de la enfermedad.

Se ha demostrado que la gravedad de la bronquiolitis no siempre está en relación con el título elevado de anticuerpos, ya que también se desarrolla la enfermedad en lactantes mayores con unos niveles prácticamente indetectables de anticuerpos ^{16, 22}. Ni la falta de respuesta inmune a nivel sistémico o local, predispone a padecer una bronquiolitis. Tan sólo se ha encontrado un mayor aclaramiento de virus en secreciones nasofaríngeas en los niños con un buen nivel de IgA secretora e IgM en suero ¹⁸.

2. *Respuesta de Inmunoglobulina A secretora (sIgA)*: Dentro de la respuesta normal a la infección por VRS, la IgA secretora juega un importante papel en la protección frente al virus. La respuesta de estos anticuerpos es muy precoz, detectándose niveles de IgA en las secreciones respiratorias a los 3-5 días del comienzo de los síntomas, tanto sólo como formando complejos inmunes ¹⁸.

Algún autor ha sostenido la idea de que ésta IgA podría ser la respuesta a una infección anterior o proceder del calostro materno. La principal inmunoglobulina del calostro y de la leche materna es la IgA secretora y se han podido comprobar, niveles de IgA secretora materna, anti VRS, en las secreciones de las vías respiratorias de los lactantes ¹⁶.

En cuanto al papel protector de la lactancia materna, los hallazgos no son muy optimistas, ya que son similares los niveles de anticuerpos encontrados en la leche, de las madres de lactantes con bronquiolitis que en aquellas otras cuyos hijos no llegan a enfermar ¹⁶. Sigue sin conocerse con precisión cual es el papel exacto de la IgA en el control de la infección ³⁵.

3. *Respuesta de Inmunoglobulina E (IgE)*: Se ha observado que niveles elevados de IgE, contribuyen, de forma importante a la inmunopatología de la bronquiolitis por VRS. Cerca del 75% de los individuos infectados por el VRS, pueden mostrar una elevación del título de IgE dentro de la semana que sigue al comienzo de los síntomas, pero en la mayoría de ellos esta elevación es transitoria. Sólo los niños con sibilancias o bronquiolitis severa, mantienen esos niveles elevados durante más tiempo, y son precisamente éstos los que muestran subsecuentes episodios de sibilancias inducidas por virus ^{16, 34}. Ya desde la década de los años 70, investigadores como Gardner y Polmar ¹⁶, sugirieron que los síntomas de la bronquiolitis podrían ser debidos a una reacción alérgica frente al VRS, mediada por IgE.

Welliver y cols. durante los años 80 y 90 han profundizado en el estudio de ésta hipótesis. Los lactantes, con infección por VRS, que presentaron niveles elevados de IgE, tienen más frecuentemente sibilancias en la fase aguda de la infección que aquellos que presentaron una respuesta más atenuada ^{39, 1, 15}. Después de la primera infección por VRS, se mantienen unos niveles bajos de IgE en suero y secreciones. Pero en el caso de reinfección, en algunos lactantes se da una importante respuesta inmunológica con hiperproducción de anticuerpos, en suero y en secreciones respiratorias. Estos anticuerpos persisten mucho más tiempo que en la primera infección, pudiendo indicar este tipo de reacción que la bronquiolitis es el resultado de una respuesta de hipersensibilidad frente al virus, que se traduce por una

producción incontrolada de IgE, quizá debido a un defecto en las células supresoras de la respuesta inmune, con la consiguiente liberación de mediadores de la inflamación, que contribuirían a la obstrucción bronquial^{18, 1}.

Una de las células que forman parte de la respuesta de aumento de IgE, es el mastocito, que libera el contenido de sus gránulos, provocando un efecto inflamatorio sobre el pulmón, incluyendo las glándulas mucosas, la pared de los bronquios y los vasos sanguíneos, que da lugar a un aumento de la secreción de moco, vasodilatación y broncoespasmo. Además, los mediadores inflamatorios atraen neutrófilos, eosinófilos y basófilos a la vía aérea, que a su vez liberan mediadores propios, que potencian la vasodilatación, hipersecreción de moco y el broncoespasmo. En esta misma línea otros trabajos han comprobado también una clara asociación entre los niveles elevados de IgE-VRS en secreciones nasales y el contenido de histamina nasal durante la fase aguda de la enfermedad, y de ambos con la severidad de la bronquiolitis⁴⁰.

Otro de los posibles efectos de la IgE sobre el receptor de membrana de los mastocitos para esta inmunoglobulina, es que induzca la liberación de prostaglandina D₂: PGD₂ y leucotrienos C₄, D₄ y E₄: LTC₄, CTD₄, LTE₄, que son los principales responsables del broncoespasmo en la fase tardía de la respuesta asmática.

Se ha demostrado que las secreciones nasofaríngeas de los niños con bronquiolitis, tienen niveles más elevados de leucotrieno C₄: LTC₄, que las de los niños con menor afectación clínica, y estos niveles están directamente relacionados con los niveles de IgE específica frente a VRS en secreciones, en el momento agudo de la infección³⁴. Aunque no todos los autores comparten esta teoría de la correlación entre los niveles de IgE específica en secreciones y severidad clínica⁴⁰.

Gran parte de los lactantes que presentan broncoespasmo inducido por una infección vírica, a menudo presenta otras alteraciones clínicas e inmunológicas frente a antígenos alimentarios y neumoaerógenos. Este tipo de respuesta podría ser debida a un mecanismo de aumento de la permeabilidad a nivel del epitelio respiratorio, durante la infección vírica, que favoreciese el paso de algunos agentes que se comportarían como alérgenos. Un estudio³⁴ realizado en ratas infectadas con VRS y subsecuentemente expuestas a ovoalbúmina en inhalación, observó títulos elevados de IgE-VRS y posterior desarrollo de una respuesta de anticuerpos frente a ovoalbúmina del tipo IgE, en suero y en secreciones obtenidas de lavado bronquial.

c) Respuesta inmune mediada por células.

El grado de respuesta inflamatoria, durante la infección vírica determina la gravedad del daño pulmonar³⁴. Esta respuesta inflamatoria a nivel celular se traduce por un mayor o menor grado de activación de las células y respuesta de sus mediadores. Es posible que la respuesta inmune mediada por células, juegue un papel importante en la patogénesis de la infección por VRS, que se inicia con la activación de linfocitos T tras el contacto con el antígeno vírico. En la subpoblación de linfocitos T helper, Th, encontramos dos tipos: los Th1 y los Th2. Los primeros estimulan la secreción de Interferón gamma (INF- γ), que frena la secreción de IgE y favorece la formación de IgG e IgA por las células formadoras de anticuerpos. Los Th2 tienen el papel de estimular la secreción de interleucina IL4 (IL4), que induce la formación de IgE.

En niños que han padecido una bronquiolitis grave, se ha observado el papel esencial que juegan los linfocitos citotóxicos, Tc, en el control de la infección aguda por VRS³⁴, habiéndose encontrado un aumento del número de estas células en el interior de las vías respiratorias periféricas. Sin embargo se produce una elevación más intensa y rápida de los linfocitos Th, durante los primeros días de la

enfermedad, en aquellos niños con síntomas clínicos de sibilancias que en los que presentan síntomas de neumonía o afectación de vías altas únicamente sin sibilancias. Estos últimos tienen una respuesta inmune más tardía y de menor intensidad. Los niños con una respuesta superior y mantenida de linfocitos activados frente al estímulo antigénico, tienen con mayor frecuencia episodios de sibilancias recurrentes ².

Los niños con déficit de inmunidad celular, que se infectan por el VRS, tienen mayores concentraciones del virus en secreciones respiratorias y durante más tiempo que los niños normales, presentando curso clínico más severo ^{18, 34}.

d) Consideraciones anatómicas.

En las primeras etapas del desarrollo embrionario de la vía aérea, durante el periodo pseudoglandular que va desde la 8ª a la 16ª semana de gestación, se empieza a formar la pared bronquial como tal. Comienza la diferenciación a partir del tejido mesenquimal: el cartílago, el músculo liso y el tejido conectivo. Hacia el final de este periodo están formadas ya las principales vías aéreas incluidos los bronquiolos terminales. Al llegar a ésta división, los bronquiolos carecen ya de cartílago en su estructura histológica. El contenido de músculo en la vía aérea, también varía con la localización anatómica. A medida que la cantidad de cartílago decrece, el músculo asume una orientación helicoidal y se hace gradualmente más fino, desapareciendo por último en los ductos alveolares ¹⁷.

La conductancia, definida como la capacidad para transmitir un fluido a través de un tubo, muestra una gran diferencia entre la vía aérea del adulto y la del lactante. Esta conductancia va aumentando con la edad y lo hace de forma importante a partir de los 5 años de vida ¹⁶. El cartílago que forma parte de la vía aérea, juega un

importante papel en el mantenimiento de la rigidez y de la conductancia de la vía aérea sobre todo durante la espiración ¹⁷.

Clásicamente, al estudiar la bronquiolitis, ha surgido el interrogante de por qué se afecta más la pequeña vía aérea en los lactantes con infección por VRS que en los adultos. Una de las hipótesis que podría explicar este hecho es la diferencia anatómica en el calibre entre ambos. Estas consideraciones acerca del pequeño diámetro de la vía aérea del lactante podrían explicar, en parte, la mayor susceptibilidad a la obstrucción, cuando se desencadena algún proceso inflamatorio en éstas primeras etapas de la vida.

Recientemente se ha insistido en la teoría, que explica las sibilancias en algunos lactantes, según la cual habría una disminución del calibre bronquial previa a la bronquiolitis en determinados niños desde el nacimiento ¹⁷. Estos niños con peor función pulmonar serían seleccionados por el virus dando lugar a los síntomas de la bronquiolitis. Transcurrido el episodio agudo, se mantendría una disminución fija del calibre bronquial que se reflejaría en una función pulmonar alterada. Las siguientes infecciones víricas desencadenarían nuevos episodios de sibilancias durante los primeros años de vida, en los que la conductancia de la vía aérea es mucho menor que en etapas posteriores de la vida.

I. 1. 8. Diagnóstico

El diagnóstico de ésta enfermedad es principalmente clínico y se establece en lactantes con un cuadro de tos y disnea, a las que se asocia, a veces, cianosis, retracciones costales y sibilancias ¹⁵. El cuadro clínico se inicia con síntomas catarrales de vías altas y, al menos dos o tres días después, se asocian ya los

síntomas de afectación de la vía aérea periférica con tos, disnea, taquipnea, fiebre y una moderada o a veces grave postración, debida sobre todo a la dificultad respiratoria. La presencia de fiebre elevada no siempre indica la evolución a neumonía. Cuando empieza la afectación de las vías bajas, pueden escucharse ruidos respiratorios como sibilancias y otros sonidos de carácter musical, que se aprecian aún con el oído desnudo.

Algunos lactantes sobre todo menores de 6 meses pueden desarrollar accesos de tos con sofocación e insuficiencia respiratoria, debido al importante aumento de secreciones que ocasionan el agotamiento de la musculatura respiratoria en los accesos mas severos ¹⁹.

Para determinar la gravedad del cuadro clínico, los principales síntomas son la taquipnea y los episodios de apnea. Los principales marcadores de gravedad son la hipoxemia y la hipercapnia ³⁵.

En el examen físico se pueden encontrar los signos de distrés respiratorio como retracciones costales, roncus y sibilancias. En niños previamente sanos los síntomas persisten durante dos o tres días, después de los cuales la temperatura desciende y la sintomatología respiratoria desaparece paulatinamente, si bien es cierto que esta evolución es muy variable y depende sobre todo de la edad ³⁴.

Los hallazgos radiológicos son inespecíficos. Si bien no hay un patrón radiológico típico, los rasgos radiológicos más comunes a este proceso incluyen: atrapamiento aéreo, engrosamientos peribronquiales, consolidaciones segmentarias y, en una minoría de casos, colapso pulmonar. El atrapamiento aéreo puede ser difuso o localizado. Los engrosamientos peribronquiales corresponden a infiltrados causados por un exudado celular con una limitada afectación perialveolar. En cuanto a las

consolidaciones segmentarias, en el caso de la bronquiolitis, corresponden al cambio del contenido aéreo del alvéolo por líquido o células inflamatorias. Las atelectasias, son difíciles de distinguir de las consolidaciones subsegmentarias ². Algunos autores han subrayado la presencia de un patrón característico de neumonía intersticial difusa con hiperinsuflación pulmonar ¹⁶.

Para llegar a un diagnóstico etiológico ³⁵ se puede detectar el antígeno del VRS en muestras de secreciones nasales por técnica de inmunofluorescencia directa.

I. 1. 9. Tratamiento

Una parte importante de los niños con bronquiolitis no necesitan ningún tipo de tratamiento, resolviéndose espontáneamente al igual que cualquier otra viriasis respiratoria. En cambio algunos lactantes requieren medidas de soporte, como por ejemplo oxigenoterapia y fluidoterapia.

Otros tratamientos que a continuación se comentan son menos frecuentemente utilizados.

. ***Oxigenoterapia.*** Para corregir la hipoxia causada por la alteración ventilación/perfusión, es suficiente el aporte de oxígeno al 30-40% ¹⁶, de éste modo puede ser evitada la acidosis metabólica y reducir el trabajo respiratorio ^{41, 19}.

. ***Hidratación parenteral.*** Debido a la taquipnea que presentan algunos lactantes en el curso de la bronquiolitis, les resulta excesivamente trabajosa la toma de alimento, por lo que se hace necesario evitar la alimentación oral e instaurar una vía parenteral para hidratación. Hay dudas acerca de la cantidad de líquido que se debe

administrar. Es necesario evitar el aporte de líquidos de forma indiscriminada por el riesgo de desarrollar edema de pulmón, cuya aparición se favorece por la presión negativa intratorácica ¹⁹.

. **Adrenérgicos.** Es clásica la discusión acerca del tratamiento con broncodilatadores en la bronquiolitis ^{42, 43}. Múltiples estudios acerca de los beta adrenérgicos han dado resultados contradictorios ⁴⁴, mostrando mejoría en algunos de los pacientes, mientras en otros se observa un efecto paradójico, con empeoramiento tras su administración. Algunos de estos trabajos utilizan para la evaluación de sus efectos parámetros clínicos y la medición de la saturación de oxígeno ^{45, 46, 47, 28, 48, 49, 50}, mientras que otros emplean pruebas de función pulmonar para evaluar la respuesta ^{51, 52, 53, 54, 55, 47, 56, 57, 58, 59}.

La mayoría de los ensayos antes citados, se han realizado con grupos poco homogéneos. En cuanto a edad, porque recogen niños de hasta 36 meses. En cuanto al tipo de patología, porque algunos están formados por lactantes en su primer episodio de sibilancias, mientras que otros incluyen niños con sibilancias de repetición. Con respecto al tipo de broncodilatador utilizado, porque en la mayoría de los ensayos, es un beta adrenérgico, mientras que en otros casos se han utilizado adrenérgicos con efecto alfa y beta.

Dada la fisiopatología de la bronquiolitis, con su gran componente de edema e inflamación del epitelio bronquiolar, podrían ser más efectivos los agentes alfa adrenérgicos como la adrenalina. Un estudio realizado por Sánchez ⁶⁰ compara los efectos de la adrenalina racémica y el salbutamol nebulizado sobre la puntuación clínica y la resistencia de la vía aérea en estudio de función pulmonar, encontrando que es superior la eficacia de la adrenalina sobre el salbutamol, en lactantes con bronquiolitis definida como primer episodio de sibilancias. Otro trabajo ⁶¹ en

lactantes diagnosticados de bronquiolitis observó sin embargo que eran igualmente eficaces la adrenalina nebulizada que el salbutamol. Algunos autores recomiendan el tratamiento con los broncodilatadores ante la duda de si se trata de una bronquiolitis o de un primer episodio de asma, proponiendo una única dosis como ensayo y en el caso de que resulte beneficioso pautarlo como tratamiento ⁴³.

. **Anticolinérgicos.** Los resultados sobre su empleo son contradictorios; algunos los valoran como eficaces ²⁰ y otros no encuentran beneficio en su utilización ²⁸. Se ha citado el bromuro de ipratropio como el más efectivo broncodilatador en los primeros años de vida dado su efecto antisecretor sobre las glándulas mucosas bronquiales ⁶².

. **Teofilina.** No se han encontrado efectos beneficiosos en su utilización. Sin embargo, aproximadamente el 20% de los niños ingresados con bronquiolitis padecen alguna forma de apnea. En estos casos el uso de teofilina podría estar justificado ¹⁹, aunque no hay estudios contrastados al respecto. Hemos de tener en cuenta el riesgo que tiene este medicamento, de aumentar la producción de ácido clorhídrico del estómago, de provocar reflujo gastro-esofágico y favorecer la aspiración bronquial de contenido digestivo.

. **Humedad ambiental.** En algunos casos se han utilizado nebulizadores ultrasónicos para la humidificación del ambiente, pero no se ha encontrado ninguna eficacia a éste procedimiento ¹⁹.

. **Ventilación mecánica.** Un 2% a 3% de los lactantes hospitalizados, precisan ventilación mecánica por fallo respiratorio agudo, debido a un progresivo agotamiento respiratorio con retención de anhídrido carbónico o pausas de apnea, complicación que se da sobre todo en lactantes pequeños ^{16, 63}.

. **Esteroides sistémicos.** Han sido cuidadosamente estudiados en numerosos trabajos, con similares resultados que indican el escaso beneficio de su aplicación. Dado que la bronquiolitis es una enfermedad que cursa con inflamación bronquial, se pensó que los esteroides, como potentes antiinflamatorios, podrían mejorar el curso natural de la enfermedad. Un amplio estudio americano ⁶⁴, realizado con 297 niños, ingresados por bronquiolitis moderada-severa, encontró que no había ningún efecto beneficioso, a corto plazo, con el tratamiento con esteroides, dexametasona IM o IV en un total de seis dosis. Este estudio concluyó que no está científicamente justificada la administración rutinaria de esteroides en la bronquiolitis. El ensayo se realizó durante la fase aguda de la bronquiolitis, pero no se analizaron los efectos a largo plazo. Otro estudio reciente ha confirmado los mismos resultados obtenidos en estudios precedentes ⁶⁵.

. **Ribavirina.** Es un agente antiviral, indicado exclusivamente en el tratamiento durante la fase aguda de la bronquiolitis grave y en aquellos niños con factores de riesgo como inmunodeficiencias, prematuridad, patología previa cardiopulmonar, etc. Su administración se realiza a través de aerosol, y se ha demostrado su efectividad en cuanto a la mejoría de los síntomas y la reducción del número de días de estancia en el hospital. La Ribavirina disminuye la producción de IgE específica frente a VRS y la liberación de mediadores de la inflamación del mastocito, sugiriendo que podría tener efectos beneficiosos a largo plazo evitando la aparición de sibilancias postbronquiolitis, aunque no está extendido su uso rutinario en todas las bronquiolitis ^{20, 66}.

. **Antibióticos.** Ante la evidencia radiológica de consolidación, se pueden administrar antibióticos, por la sospecha de una sobreinfección bacteriana que habría sido facilitada por la supresión local de la actividad de los macrófagos en el pulmón ³¹.

I. 1. 10. Prevención

Aunque la mortalidad de la bronquiolitis es baja, su morbilidad es importante particularmente en lactantes pequeños por lo que es de suma importancia evitar su exposición ^{67, 16}. Los inmunodeprimidos, cardiópatas o lactantes con displasia broncopulmonar deben aislarse de los niños con bronquiolitis VRS. Es importante, como primera medida protectora, el lavado rutinario de manos ⁶⁷, para evitar la diseminación de la infección ¹⁹.

En segundo lugar, se ha intentado realizar una profilaxis de la enfermedad a través de la inmunización activa o pasiva. Los esfuerzos por encontrar una vacuna efectiva, han sido infructuosos. Aunque se elaboró, en la década de los 60, una vacuna que conseguía buenos títulos de anticuerpos: neutralizantes y fijadores del complemento, muy pronto se dejó de utilizar por las numerosas observaciones habidas en los niños vacunados, que desarrollaban una forma grave de bronquiolitis, cuando posteriormente se infectaban con el virus en estado natural ¹⁶. Los intentos para elaborar una vacuna eficaz continúan, pero no ha sido posible conseguir, por el momento, un producto estable que conserve su inmunogenicidad.

En cuanto a la inmunización pasiva, la protección de los anticuerpos que pasan la barrera placentaria puede ser eficaz en algunos lactantes, siempre que su nivel en suero materno sea suficiente. Se hizo un ensayo de vacunación de las madres durante la gestación, consiguiendo niveles de protección aceptables, pero se observó que los niveles de anticuerpos iban descendiendo en los últimos meses, siendo casi indetectables al final de la gestación, por lo que no se consigue el efecto buscado de aumentar el paso trasplacentario en las últimas semanas de gestación que proteja al futuro neonato frente a la infección ¹⁶.

Se ha publicado recientemente un ensayo ⁶⁸ realizado en lactantes con displasia broncopulmonar, cardiópatas o prematuros. En él se utilizó, para la prevención de la infección por VRS, una inmunoglobulina de anticuerpos neutralizantes del VRS. Se aplicó una dosis mensual de 750 mg/Kg de dicha inmunoglobulina, durante los meses de epidemia. Los resultados obtenidos muestran que hay una significativa diferencia entre aquellos que recibieron el tratamiento con respecto a los no tratados, presentando una menor incidencia de las complicaciones de la infección por VRS, como es la otitis media aguda. Otro estudio observó beneficio de la aplicación de esta inmunoglobulina en lactantes más severamente afectados, pero no se demostró un acortamiento del tiempo de hospitalización.

Se han ensayado también anticuerpos IgA monoclonales contra VRS por vía intranasal como anticuerpos protectores frente a la infección por VRS ⁸⁰. Se administró una dosis diaria por vía intranasal, de 0.5 mg/ Kg. durante dos días, antes de la inoculación de VRS intranasal y cuatro días después de la misma. En los resultados se observó una reducción de la concentración de virus en secreciones nasofaríngeas y bronquiales, consiguiéndose además unos niveles neutralizantes de anticuerpos frente a VRS en suero.

I. 1. 11. Evolución posterior

Aunque la forma más común de presentación de la bronquiolitis tiene un índice muy bajo de mortalidad, la morbilidad es importante y las secuelas a largo plazo frecuentes, condicionando de manera importante el normal desarrollo de los lactantes, que han padecido la bronquiolitis, debido a sus frecuentes episodios de sibilancias de repetición inducidas por cualquier viriasis respiratoria por banal que sea ¹⁶.

Hay numerosos puntos oscuros, acerca de las secuelas a largo plazo de la bronquiolitis y de su posible prevención. La prevalencia de los síntomas respiratorios de los niños que tuvieron bronquiolitis, va decreciendo a medida que pasan los años. Durante los dos años siguientes a la bronquiolitis, son muy frecuentes los síntomas respiratorios de la vía aérea periférica y se observa un cierto retraso en la ganancia ponderal^{15, 41}. A los 5 años de haber padecido la bronquiolitis, el 40% tiene aún sibilancias y 8 a 10 años después la prevalencia cae al 10-20%. Aunque estas cifras, son comparables a las sibilancias encontradas en la población general de niños de esa edad¹⁵. Del 5 al 75 %, según las distintas series, de los niños que han padecido una bronquiolitis grave, tienen, hasta 10 años después, síntomas respiratorios de tos y sibilancias de repetición^{63, 69, 16 y 15}.

Más de la mitad de los niños a los 2 años de haber padecido bronquiolitis VRS, tienen todavía una marcada hiperinsuflación pulmonar, que indica una persistencia de la obstrucción de la pequeña vía aérea. Son evidentes las dificultades encontradas para realizar de forma rutinaria pruebas de función pulmonar, pero dada la elevada prevalencia de las sibilancias, se habla de hiperreactividad bronquial como una de las secuelas más frecuentes de la bronquiolitis aguda. Algunos estudios confirman la hiperreactividad bronquial a través de pruebas de provocación realizadas a los 7 a 10 años de haber padecido una bronquiolitis¹⁵, confirmándose por medio del estudio de la función pulmonar una hiperreactividad bronquial, con test de ejercicio y provocación con histamina positivos y en más del 30% de los niños. Otro estudio⁷¹, observó que pasados 9 a 10 años de una bronquiolitis, el 57% de los niños tenían también un test de metacolina positivo.

Esta alteración es más clara en niños con un fuerte componente genético, es decir en hijos de padres con hiperreactividad bronquial, con test positivo a metacolina, lo

que podría sugerir una posible predisposición genética a la hiperreactividad bronquial y a la bronquiolitis.

Esta predisposición familiar hacia el asma es mayor en los niños que más frecuentemente presentaron sibilantes recurrentes y aumento de la resistencia de la vía aérea, después de una bronquiolitis grave por VRS ⁶³ con alteración de otros parámetros de su función pulmonar como la distensibilidad y los flujos espiratorios

39

I. 1. 12. Bronquiolitis y asma

Parece claro que la bronquiolitis ocupa un lugar fundamental en la aparición de patología broncopulmonar a corto y largo plazo, aunque la relación que hay entre la bronquiolitis en los primeros meses de vida y el desarrollo de hiperreactividad bronquial, más adelante, no ha sido bien estudiada, las semejanzas clínicas de ambos procesos son claras ⁷⁰. Es sabido que una parte importante, según algunos autores cerca, del 30 %, hasta, para otros, incluso el 70 % de los niños que han padecido una bronquiolitis grave, desarrollan posteriormente patología bronquial, con episodios de disnea y sibilancias recidivantes, al menos durante los dos años que siguen a la bronquiolitis, desarrollando asma algunos de ellos ^{19, 15, 23, 70}.

Bronquiolitis y asma tienen elementos clínicos comunes, entre los que se encuentran en primer término las sibilancias. Esto hace que puedan ser confundidas con facilidad ⁷¹. Algunos autores ²² reservan el diagnóstico de bronquiolitis a lactantes con sibilancias y el término asma para niños más mayores, en los que se da, además, una predisposición a la atopia.

Se ha intentado elucidar la transición de las sibilancias del lactante al asma del adulto. Un gran estudio de Strachan y cols. referido por WJ Morgan ⁸² examinó la evolución de una población de 10.500 lactantes sanos. Más del 18% presentaron sibilancias antes de los 7 años de edad y de éste subgrupo, el 20% tuvo un nuevo episodio de sibilancias entre los 16 y 23 años, siendo mucho mayor la prevalencia en este subgrupo que la del subgrupo de los que no habían tenido sibilancias en la época de lactante, que fue del 7%. Pero al hacer la corrección para asma y tabaco, no se observó relación entre las sibilancias antes de los 7 años de edad y el asma tardía. En niños de entre 7 y 10 años con antecedente de bronquiolitis severa ⁸² se encontró que aproximadamente el 50% de ellos, frente al 20% del control, tenían sibilancias de repetición, y estas sibilancias no podían ser justificadas por ningún otro factor como historia de alergia entre los antecedentes familiares ni personales.

El diagnóstico diferencial del primer episodio agudo de sibilancias de un lactante se deberá hacer entre la bronquiolitis o la primera crisis de asma ⁷³. Los elementos que definen el asma son en primer lugar la inflamación bronquial causada principalmente por los eosinófilos ^{10, 3, 4, 11, 5, 6, 12, 74, 75, 76, 77, 78 y 79}, como célula inflamatoria. La inflamación bronquial favorece el broncoespasmo que da lugar a episodios de sibilancias, que revierten con broncodilatadores, y a hiperreactividad bronquial.

Los niveles elevados de IgE o prick test positivos a alérgenos más habituales, inclinan al diagnóstico de asma como primera posibilidad y, en cambio, el cuadro vírico asociado apoya el diagnóstico de bronquiolitis ¹⁵.

Para buscar la relación entre bronquiolitis y posterior desarrollo de sibilancias y alergia, se estudió en 73 lactantes que habían padecido bronquiolitis severa,

observándose que 5 años después de su padecimiento, el 42% seguía teniendo sibilancias pero que no había mayor relación con el desarrollo de atopía, que en el grupo control ⁸⁰. Otros trabajos, sin embargo, observan un aumento del desarrollo de atopía en lactantes que habían padecido bronquiolitis ^{16, 15 y 81}.

Se ha demostrado que los factores de riesgo de producir sibilancias son: la bronquiolitis en el 1% de los casos, la sensibilización alergia en el 12% y la exposición al humo de tabaco en el 34%.

El estudio del posible papel de la infección vírica en el comienzo del asma ha puesto en marcha numerosos ensayos, algunos de los cuales sugieren que la infección vírica, ocurrida en las primeras etapas de la vida, podría alterar la función pulmonar y el sistema inmune, dando lugar a una persistente hiperreactividad bronquial. De hecho, se ha demostrado ⁶⁷ que las infecciones respiratorias causadas por virus, juegan un importante papel en la historia natural de la enfermedad obstructiva crónica de la vía aérea no solo del niño, sino del adulto. Con respecto a éste punto, no está claro si la hiperreactividad bronquial está presente antes o es el resultado de la bronquiolitis ni tampoco se sabe con seguridad el mecanismo patogénico preciso de las sibilancias inducidas por virus.

Para determinar la influencia de las infecciones respiratorias como factor de riesgo para el desarrollo de asma, se realizó un trabajo ²² durante un periodo de 11 años, en los que se observaron 1.851 infecciones respiratorias asociadas a sibilancias en un grupo de niños de edades comprendidas entre el nacimiento y los 15 años. En cuanto a los principales agentes etiológicos se encontraron el VRS, adenovirus, parainfluenza 1 y 3, rinovirus y micoplasma. La edad principalmente afectada fue en niños menores de dos años, en el 50% de los casos. De éstos el 19% continuaron con sibilancias hasta los 9 años. El agente más frecuente en los niños menores de 5

años fue el VRS, y en los mayores de 5 años el *Micoplasma Pneumoniae*, frecuentemente aislado en escolares de éstas edades. La mayor incidencia de los episodios de sibilancias, en menores de 2 años, coincidió con el pico estacional de infección por VRS.

Para conocer los factores que afectan al desarrollo de sibilancias a los 6 años de edad ⁷² se realizó un importante estudio sobre 1.246 recién nacidos, en principio sanos, en los que se determinaron: 1º, los valores de IgE, en sangre de cordón, a los nueve meses y a los 6 años, 2º, se realizaron pruebas de función pulmonar, antes del primer episodio de sibilancias y a los 6 años y 3º, se hicieron prick test a los 6 años de edad. Junto a estas determinaciones se investigó acerca de los episodios de sibilancias, los antecedentes familiares de asma y el hábito de tabaco en la madre. Entre los resultados se encontró que a la edad de 6 años la mitad de los niños no había tenido ningún episodio de sibilancias.

Entre los resultados del estudio se encontró que el 20% había tenido algún episodio durante los primeros tres años, y ninguno de los 3 a los 6 años, y sus pruebas de función pulmonar: el flujo espiratorio a nivel de la capacidad funcional residual, V_{maxFRC} , estaban alteradas antes del primer episodio y a los 6 años, teniendo unos niveles de IgE en suero normales y pruebas cutáneas a los 6 años negativas, la madre tenía hábito tabáquico y no había antecedentes de madre asmática. El 13%, tuvo sibilancias durante los seis primeros años, éstos tenían unas pruebas de función pulmonar normales antes del primer episodio y alteradas a los 6 años, además tuvieron elevados los niveles de IgE y pruebas cutáneas positivas y había antecedentes de madre asmática. De este último grupo minoritario de niños probablemente podamos decir que tenían una predisposición al asma, a diferencia del grupo que tuvo sibilancias transitorias durante los tres primeros años y que tenía unas pruebas de función pulmonar alteradas al nacimiento.

La influencia de determinados factores ambientales en el desarrollo de sibilancias, en la infancia varía según la edad. Con respecto a la alergia, se ha encontrado ⁷², que en los menores de 2 años, sólo el 9% presenta sensibilización frente a neumoaergenos. Entre los 2 y 4 años la sensibilización alérgica aumenta al 35%, cifra que se eleva claramente a partir de los 4 años, en que el 72% estaba sensibilizado a algún alergeno. El nivel de eosinófilos en secreciones nasales es paralelo al de la sensibilización alérgica en las distintas edades. En relación a las viriasis respiratorias es mayor en los menores de 2 años, siendo el virus más frecuente el VRS. Y por último a exposición al humo de tabaco es más frecuente en menores de 2 años que los de más edad.

I. 1. 13. Sibilancias en la lactancia

Hay varias teors acerca de la etiopatogenia de las sibilancias en la época de lactante.

1. Teoría de la disminución previa de la función pulmonar: Es una de las más innovadoras teorías ^{82, 83 y 83} para explicar las sibilancias de repetición en los lactantes que han padecido bronquiolititis. Esta teoría de la disminución previa del calibre de la vía aérea en esos lactantes, es la que defiende una disminución previa del calibre de su vía aérea que se mantendría durante los primeros años de vida, a partir de los cuales tendería a mejorar debido, sobre todo, al aumento del diámetro bronquial.

Esta hipóteís de Martínez F y cols., refiere la alteración previa de la función pulmonar como factor condicionante para el desarrollo de un episodio de sibilancias en el que la primera viriasis respiratoria seleccionaría a los niños con menor función pulmonar, dando lugar, más fácilmente, a una obstrucción de las vías de calibre más

pequeño, que provocaría las sibilancias y el atrapamiento aéreo, que daría lugar a la bronquiolitis. En este primer supuesto, transcurrida la bronquiolitis, primer episodio de sibilancias inducidas por una infección viral, se mantendría una disminución fija de la función pulmonar y las siguientes infecciones causadas por virus darían lugar a nuevos episodios de sibilancias, principalmente, durante los primeros años de la vida.

2. *Teoría inmunológica:* Otra segunda teoría es la que presenta al virus como agente causante de la lesión local en la vía aérea que da lugar a la bronquiolitis, de tal manera que se podría desarrollar, después de la infección vírica, una hiperreactividad bronquial, originada por una respuesta de hipersensibilidad frente al virus que determinaría la severidad de las siguientes infecciones víricas^{1, 81 y 85}, implicándose en ésta respuesta los mediadores inflamatorios como por ejemplo la ECP del eosinófilo. Esta hiperreactividad se podría mantener hasta bastantes años después del episodio agudo de bronquiolitis, objetivándose cifras más bajas de función pulmonar¹⁵. Varios trabajos han demostrado que la respuesta de IgE específica frente a virus determina la intensidad de las sibilancias^{82, 15}.

Ambas hipótesis pueden ser válidas y complementarias: la de la alteración congénita y la adquirida en respuesta a la viriasis.

3. *Factores ambientales:* El desarrollo de sibilancias en éstas primeras etapas de la vida, se ve también favorecido por la lesión pulmonar previa adquirida por ejemplo por la ventilación mecánica de las primeras etapas de la vida; por el bajo peso al nacimiento debido a factores intrauterinos; por el hábito del tabaco en la madre durante la gestación, que pueden condicionar un deficiente desarrollo pulmonar, o debido a otros factores sociales como son un menor cuidado durante la gestación y primeras etapas de la vida en hijos de madres jóvenes, menores de 20

años, en los que aumenta el riesgo de presentar sibilancias durante el primer año de vida ⁸².

4. Factores constitucionales: Entre los factores constitucionales que pueden condicionar la aparición de sibilancias en la lactancia se pueden encontrar los antecedentes familiares de atopia. Parece cada vez más claro que los cromosomas 5 y 11 pueden contener genes relevantes para el asma y la atopia ^{86, 87, 88, 89 y 90}. Hay autores, sin embargo, que insisten en los factores ambientales como principales elementos en la expresión clínica de la enfermedad atópica, pero lo más probable es que todos los factores tengan su papel en la aparición de sibilancias en los primeros meses de la vida, y que al igual que el asma tenga una etiología multifactorial.

En lo relativo a la heredabilidad de la secreción de IgE total ⁸², se encuentra presente en un 50-84% de los lactantes con sibilancias. En cambio la producción de IgE específica, puede estar más relacionada con factores ambientales, también para su manifestación clínica.

I. 1. 14. Asma

El asma, ha sido tradicionalmente definida como una enfermedad caracterizada por episodios agudos de disnea y sibilancias, relacionadas con obstrucción de la vía aérea, al menos parcialmente reversible. Dicho concepto está siendo actualmente ampliado, profundizando en los rasgos inmunológicos e histopatológicos responsables de la inflamación de la vía aérea ^{91, 92}.

El Consenso Internacional para el Diagnóstico y Tratamiento del Asma de la Academia Americana de Asma, Alergia e Inmunología del año 1991 ⁹¹ propone la

siguiente definición: “El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias en la que están implicadas varias células, incluyendo los mastocitos y los eosinófilos. En los individuos susceptibles esta inflamación produce síntomas que generalmente están asociados con una obstrucción variable al flujo aéreo que es reversible de forma espontánea o con medicación, y produce un aumento de la respuesta de las vías aéreas a diversos estímulos”.

Y en el Consenso de Febrero-1997 ⁹² se definen los rasgos del asma como: 1º una enfermedad inflamatoria crónica que afecta a las vías aéreas cuyos principales características inmunohistopatológicos incluyen denudación del epitelio, depósito de colágeno en la membrana basal, con remodelación posterior de la pared bronquial, edema, activación de mastocitos e infiltrado de células inflamatorias como neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y formación de tapones de moco. 2º la inflamación de la vía aérea contribuye a la obstrucción bronquial con limitación del flujo aéreo, a la hiperreactividad bronquial y a los síntomas respiratorios como episodios de broncoconstricción. 3º la atopia, la predisposición genética para el desarrollo de una respuesta a alérgenos comunes mediada por IgE, es un factor predisponente para el desarrollo de asma”.

Entre los posibles factores etiológicos del asma se contempla la alergia como el principal desencadenante de la inflamación bronquial, que se traduce por un infiltrado de linfocitos y eosinófilos activados que liberan sus mediadores de la inflamación ^{10, 12, 4, 11, 5, 6 y 12}.

A través de los estudios de las secreciones bronquiales de enfermos asmáticos adultos por medio de lavado broncoalveolar, BAL, se ha obtenido una valiosa información acerca de las células responsables del proceso inflamatorio, permitiendo entender mejor la naturaleza de la inflamación asmática. Los

principales componentes que forman parte del BAL son: detritus celulares, secreción mucosa y linfocitos, mastocitos y eosinófilos junto con sus mediadores de la inflamación como la proteína catiónica del eosinófilo, ECP, y la proteína básica principal del eosinófilo, MBP ⁹³.

En relación con las crisis de asma, está bien estudiada la respuesta bimodal característica de los asmáticos que tienen una sensibilización a algún neumoaergeno. En toda reacción asmática podemos encontrar una reacción de fase temprana desarrollada de forma inmediata, a los 15 minutos del contacto con el alergeno y otra tardía la cual ocurre 6 a 12 horas después de la estimulación. En ésta última fase se detecta un aumento de la capacidad de respuesta bronquial inespecífica, que depende de la liberación de mediadores anafilácticos como son el leucotrieno, factores activadores de las plaquetas, etc. Estos mediadores inician la liberación de metabolitos de la ciclooxigenasa, principalmente tromboxano, por células inflamatorias reclutadas en las vías respiratorias. El tiempo que transcurre entre la fase temprana y la tardía parece ser el necesario para reclutar estas células desde fuera de las vías respiratorias ⁸².

I. 2. MARCADORES DE LA INFLAMACIÓN BRONQUIAL

I. 2. 1. Generalidades

La inflamación de la vía aérea es la responsable de la hiperreactividad bronquial tanto del asma como de otras enfermedades bronquiales que no podemos llamar asma. En el tipo de inflamación que conlleva hiperreactividad bronquial tiene un papel predominante el eosinófilo, cuya producción está dirigida por un proceso

inmunológico peculiar determinado por el tipo de respuesta inmune tras el estímulo antigénico en la vía aérea. Con la exposición al antígeno, éste entra en contacto con las células presentadoras del antígeno, cuya función es procesar el antígeno y ponerlo en contacto con los linfocitos, que daran uno u otro tipo de respuesta dependiendo del tipo de células que medien la inflamación .

Hasta hace pocos años, la manera habitual de confirmar la actividad inflamatoria en algunas enfermedades, ha sido la medida de reactivos de fase aguda, siendo la más frecuentemente utilizada la velocidad de sedimentación globular VSG, aunque hoy ha sido reemplazada por técnicas algo más seguras como por ejemplo la proteína C reactiva PCR, la haptoglobina y el orosomucoide, por mencionar algunas ¹⁰. Pero éstos métodos ofrecen poca información acerca del tipo de inflamación y de las células involucradas en cada proceso.

Durante los últimos años se han llevado a cabo numerosos trabajos para determinar los distintos productos específicos de algunas de las células inflamatorias que tienen relación con el asma. El objetivo principal de estos trabajos ha sido determinar si estas proteínas, detectables en diversos líquidos orgánicos, puedan servir de marcadores para medir la actividad inflamatoria de estas células de una manera más objetiva y discriminatoria. Esto aportaría grandes ventajas en cuanto al diagnóstico, al manejo clínico y al control terapéutico de los enfermos ¹⁰.

I. 2. 2. Eosinófilo.

Recientemente se ha ido tomando un interés cada vez mayor por la inflamación de la pared bronquial como causa del asma. Entre las células más directamente implicadas en este proceso parece estar el eosinófilo.

La inflamación bronquial se puede evidenciar de forma directa con estudios anatomopatológicos realizados en muestras de biopsias bronquiales o en el fluido obtenido del lavado broncoalveolar. También indirectamente se puede objetivar la inflamación con los niveles de mediadores liberados de cada una de las células responsables del proceso inflamatorio.

En los últimos 10-12 años, se ha producido un importante cambio en el conocimiento de la biología celular, de la función y de la fisiopatología del eosinófilo. Por primera vez, en 1980, Bousquet y cols. observaron en el estudio anatomopatológico realizado en muestras de biopsia bronquial que las áreas en las que el epitelio estaba intacto correspondían a aquellas zonas en las que los eosinófilos no estaban degranulados. Por el contrario aquellas otras áreas en las que se encontraba denudado el epitelio correspondían a zonas con eosinófilos degranulados y un aumento de sus mediadores inflamatorios depositados en el epitelio bronquial como la ECP ⁹⁴.

Estos y otros estudios confirman que el eosinófilo es una de las principales células inflamatorias responsables de la patogénesis del asma y que es considerado como la célula efectora de la inflamación asmática, aunque queda mucho por conocer acerca de sus mecanismos de activación y del papel de sus mediadores ^{95, 95}.

a) *Origen y diferenciación.* El eosinófilo fue observado por primera vez por Wharton Jones en 1846 en sangre periférica. Ehrlich en 1879 fue el que por primera vez lo denominó de ésta manera, debido a la intensa tinción de sus gránulos con el colorante ácido eosina.

Procede de una célula progenitora hematopoyética pluripotencial y su diferenciación y maduración, se realiza bajo el control de algunos factores derivados del linfocito T y de las células mesenquimales ⁶. Para que el eosinófilo pueda cumplir su función, necesita una capacitación, que adquiere, en primer lugar, con el proceso madurativo, pasando por sus distintas fases de desarrollo, de la célula pluripotencial al eosinófilo maduro, y en segundo lugar con el proceso de activación. Ambos procesos, dependen de factores ambientales y de sustancias con propiedades específicas para ello, que regulan la producción y diferenciación de estas células. Estos factores estimulantes se conocen con el nombre de citocinas ⁹⁷. Hay tres citocinas que favorecen ésta diferenciación: las interleucinas 3 y 5, IL-3 y IL-5 y el factor estimulador de las colonias de granulocitos-macrófagos, GM-CSF, algunas de éstas citocinas son las mismas que intervienen en el proceso de maduración de otros granulocitos.

El ciclo vital del eosinófilo se puede dividir en las fases medular, sanguínea e hística. Si bien los eosinófilos son elementos formes de la circulación periférica, su principal función reside en los tejidos: en el hombre la relación entre eosinófilos hísticos y sanguíneos es de 100:1 ⁹⁸. El periodo de diferenciación y maduración se realiza en 5 días, después de los cuales, el eosinófilo, abandona la médula ósea y se incorpora a la circulación periférica donde tiene una vida media muy corta, entre 13 y 18 horas antes de migrar a los órganos. Para infiltrarse en los tejidos utiliza el mecanismo de diapedesis, a nivel de las uniones intercelulares endoteliales ⁹⁷.

Al examinar, *in vitro* o *in vivo*, a los eosinófilos, se encuentran diferencias en cuanto a su morfología y situación funcional. El significado de ésta heterogenicidad

celular, se piensa, que está en relación con la etapa de la vida del eosinófilo en que se encuentra, que le facilita, en cada momento, su adaptación a las condiciones del microambiente, al que debe someterse, como por ejemplo la respuesta que debe dar a determinado tipo de agresiones tisulares.

Esta heterogenicidad celular no es específica del eosinófilo, sino que ha sido observada también, en otras células. Los eosinófilos se distribuyen en distintos órganos, pero tienen especial tropismo por aquellos cuya superficie epitelial, se encuentra expuesta al ambiente externo, como por ejemplo el tracto genitourinario, respiratorio ó gastrointestinal. Allí permanecen secuestrados durante aproximadamente 2 a 6 días, al cabo de los cuales son eliminados, por la fagocitosis de los macrófagos, por lisis, degranulación *in situ* o por eliminación a la luz, a través de las superficies mucosas. Los eosinófilos tienen la capacidad de ser atraídos por sustancias químicas, factores quimiotácticos, liberados por diferentes células, como son los linfocitos T, mastocitos y basófilos ⁹⁵.

b) Morfología. Entre los rasgos morfológicos más característicos del eosinófilo encontramos que el tamaño del eosinófilo ya maduros es de 12 a 17 μ , , en sangre periférica. Poseen un núcleo bilobulado y contienen un elevado número de enzimas y proteínas básicas de alta actividad biológica, que son almacenadas en los gránulos citoplásmicos ⁹⁵.

c) Gránulos citoplásmicos. Los eosinófilos están constituidos por tres tipos de gránulos que se localizan en el interior del citoplasma. Los gránulos que aparecen en la etapa de diferenciación, son los gránulos primarios, que contienen lisofosfatasa. Un segundo tipo de gránulos son los llamados gránulos pequeños, que contienen fosfatasa ácida y Arilsulfatasa B. El tercer tipo de gránulos con forma elíptica, son los gránulos específicos del eosinófilo. También situados en el

citoplasma, contiene una estructura cristalóide que ocupa casi todo el gránulo, con mayor densidad electrónica que la matriz donde están incluidos y están formados por las proteínas básicas del eosinófilo.

d) Proteínas básicas del eosinófilo. Son cuatro. 1º: Proteína básica principal: MBP. 2º: Proteína catiónica eosinofílica: ECP. 3º: Peroxidasa eosinofílica: EPO. 4º: Proteína X del eosinófilo o proteína derivada de la neurotoxina: EPX o EPN. Estas proteínas fueron descritas por vez primera en 1974 por Olsson y Venge en Uppsala, Suecia⁹⁹.

Con unas condiciones adecuadas, estas proteínas contenidas en los gránulos del eosinófilo, se vierten al espacio extracelular, de forma selectiva, tras la estimulación por distintos secretagogos que inducen su liberación. La interleucina 5: IL-5, es probablemente la más importante citocina en relación con la maduración, activación del eosinófilo y con la liberación de sus proteínas granulares. En cuanto a la secreción de las distintas proteínas contenidas en sus gránulos, cada una de ellas, es liberada tras ser estimulado un receptor específico de membrana. Los receptores de IgG y C3b, al ser activados, liberan ECP y en muy escasa medida EPO, el receptor de la IgE, libera de forma selectiva EPO, y una pequeña cantidad de ECP. La activación del receptor de la IgA, libera todas las proteínas granulares. Tras la liberación de los gránulos del eosinófilo, que se lleva a cabo no por exocitosis sino por secreción, en ningún caso tiene lugar la muerte celular¹⁰⁰.

Para conseguir unos indicadores específicos de la actividad del eosinófilo, podemos medir en diferentes fluidos los niveles de ECP y EPO, ya que el contenido de estas proteínas es específico del eosinófilo y en otras células es mínimo.

Se han realizado varios estudios utilizando microscopía electrónica, para determinar el mecanismo por el que estas proteínas son liberadas de los eosinófilos. Se encontró que algunos gránulos del eosinófilo, tras el estímulo activador específico, se fusionaban formando brotes y vesículas a nivel de la membrana del gránulo, pudiendo observarse la presencia de canales entre los gránulos y la membrana celular. La liberación de los mediadores, por tanto, es debida a la secreción específica de algunos, y no de todos los componentes del gránulo, hacia el exterior de la célula ¹⁰¹.

Cada una de las proteínas granulares, ha sido clonada y estudiadas sus propiedades bioquímicas y funcionales. La proteína básica principal, MBP, constituye el 55 % del contenido proteico de los gránulos y se localiza en el núcleo de los gránulos del eosinófilo. Su punto isoelectrico es extremadamente alcalino, está por encima de un pH 10, y tiene un peso molecular de 14 kDa, no posee ninguna actividad enzimática, pero si un elevado poder tóxico para algunos parásitos como los helmintos, las células tumorales y algunas células de otros tejidos. A dosis de 1.7×10^{-5} mol/L, alrededor del 80% de las larvas de *Trichinella spiralis*, anulan su movilidad ⁸⁵ y cantidades de 10 µg/ml son tóxicas para el epitelio respiratorio.

Sus efectos in vitro, se ha comprobado que son idénticos a los del bronquio del asmático, provocando una descamación del epitelio respiratorio. Se han encontrado niveles elevados de MBP en esputos de enfermos en una crisis asmática, hallándose una concentración media de los niveles de MBP de 8 µg/ml. En muestras de tejido pulmonar de necropsia de los fallecidos en una crisis de asma, se han encontrado depósitos de MBP en aquellos lugares en los que el epitelio bronquial está más dañado ^{4 y 98}.

La proteína catiónica del eosinófilo, ECP, se localiza en la matriz granular. Es una proteína altamente catiónica, con un pH de 11. Tiene un peso molecular aproximado de 21 KDa y está formada por una cadena polipeptídica única ¹⁰². En el fraccionamiento de proteínas, muestra dos picos de actividad antigénica: ECP-1 y ECP-2 ⁹⁵. Tiene un importante papel en la enfermedad atópica, como por ejemplo el asma, la dermatitis atópica y la rinitis alérgica. En estas enfermedades se encuentran niveles elevados de ECP en fluidos orgánicos. Posee además un efecto tóxico para los helmintos y actividad bactericida ¹⁰³, ⁶, ⁹⁵. Su toxicidad frente a parásitos, es segura a dosis 1.7×10^{-5} ⁴. La ECP almacenada en los gránulos del eosinófilo puede liberarse tanto in vitro como in vivo ⁷⁸.

En los estudios llevados a cabo con anticuerpos monoclonales dirigidos contra la ECP se observaron diferencias entre las formas almacenadas y secretadas de la molécula. Los EG1 reconocen ambas y los EG2 sólo reconocen las formas secretadas. Estos anticuerpos se han utilizado para el estudio de eosinófilos en tejidos y en sangre en las enfermedades en las que interviene de forma principal esta célula ⁹⁷. La concentración media de ECP en granulocitos obtenidos de sangre periférica de sujetos sanos es en el eosinófilo normal de 5.269 ng / l., en el basófilo 77 y en el neutrófilo 50 ¹⁰⁴.

La proteína eosinofílica derivada de la neurotoxina, EDN o EPX tiene una parte de su secuencia proteica, similar a la ECP, siendo ambos polipéptidos de aproximadamente el mismo tamaño, que oscila entre 18 y 21 kDa. Ambas inducen una disfunción cerebral, cuando se inyectan en el cerebro de conejo, éste hecho, fue descrito por Gordon por primera vez en 1930, y se ha llamado "Fenómeno de Gordon". Además estas proteínas tienen una parte de su secuencia idéntica a la ribonucleasa pancreática y tienen alguna actividad biológica común. La EDN, tiene

una actividad como ribonucleasa, 100 veces más potente que la ECP⁹⁵, pero sin embargo presenta una débil actividad citotóxica frente a parásitos.

La cuarta proteína básica del eosinófilo es la peroxidasa del eosinófilo, EPO, que consta de dos polipéptidos de aproximadamente 15 y 55 kDa, tiene como principal función, al igual que ECP y MBP, la actividad tóxica frente a protozoos y parásitos, bacterias y células tumorales.

En el hombre hay una considerable variabilidad en cuanto a la cantidad de cada una de las proteínas contenidas en los gránulos, y la EPO, parece ser la proteína predominante, en términos de masa, seguida de MBP, EDN y ECP⁴.

Muy recientemente, se ha puesto en marcha un método para la detección intracelular de ECP y EPO de los gránulos del eosinófilo, llamado "Método de flujo citométrico". Usando los anticuerpos monoclonales anteriormente descritos: EG1 y EG2 antiECP y IgG2a antiEPO. Después de la fijación y permeabilización de los eosinófilos, se incuban con estos anticuerpos monoclonales, previamente marcados, sometiendo más tarde la muestra a un microscopio especial, que detecta una señal fluorescente que emite el eosinófilo que contiene ECP o EPO, de mayor o menor intensidad dependiendo de la cantidad de ECP y EPO que contenga. Por éste método se intenta diferenciar entre las dos subpoblaciones de eosinófilos: activados, los que contienen ECP de los no activados que no la contienen. Es éste un método rápido, fácil, semicuantitativo^{105, 106}.

Además de los gránulos, en el interior del eosinófilo, se pueden observar unas estructuras vesículo-tubulares, que tienen por función el transporte de sustancias a través del interior del eosinófilo. Otros organelos son los cuerpos lipídicos, estructuras redondas que carecen de membrana, de un tamaño mayor que los

gránulos específicos. Su número aumenta durante la activación del eosinófilo y parece ser el lugar donde se almacena el ácido araquidónico y sus derivados. Los eosinófilos también contienen otros organelos celulares como son el aparato de Golgi, retículo endoplásmico, mitocondrias, etc.⁹⁵.

e) Sustancias sintetizadas de novo. Los eosinófilos maduros, tienen una gran capacidad para sintetizar sustancias *de novo*, cuya función es proinflamatoria. Entre ellas se encuentran los radicales oxigenados, mediadores lipídicos y mediadores proteicos.

1. Radicales oxigenados: Como respuesta a la estimulación, los eosinófilos generan radicales oxigenados tóxicos, como son O_2^- , H_2O_2 y probablemente $1O_2$ y OH^- .

2. Mediadores lipídicos: El principal papel de los mediadores lipídicos es el de atraer células proinflamatorias al lugar de la inflamación. En el grupo de los mediadores lipídicos, se encuentra el factor activador de las plaquetas, PAF, los derivados del ácido araquidónico: el leucotrieno C4: LTC_4 , las prostaglandinas E, D_2 , F_1 y $F_{2\alpha}$; PGE , PGD_2 , PGF_1 y $PGF_{2\alpha}$, y el tromboxano A_2 : TxA_2 . Una de las principales funciones del eosinófilo es la de sintetizar grandes cantidades de factor activador de las plaquetas, PAF.

El PAF, no es sólo un potente activador de las plaquetas como su propio nombre indica, sino un factor quimiotáctico y activador del eosinófilo y la principal fuente de éste mediador. Es sabido que los leucotrienos y el PAF, intervienen en la patogénesis de la inflamación. En el asma por ejemplo, el PAF, actúa como uno de los más potentes mediadores de la inflamación. Provoca alteraciones en el bronquio del tipo de broncoconstricción, y a nivel vascular, vasodilatación capilar. Además se

ha demostrado que el PAF tiene un importante papel estimulador para el eosinófilo, como factor responsable de la infiltración de éstas células inflamatorias hacia el bronquio del asmático.

Se cree que la respuesta del eosinófilo al PAF, puede incrementarse durante la enfermedad activa, poniendo en marcha un gran número de funciones, como son la quimiotaxis del eosinófilo, tanto *in vitro* como *in vivo*, la adhesión del eosinófilo a las células endoteliales, la citotoxicidad frente a parásitos, la liberación de enzimas y proteínas granulares.

Otra de las funciones del PAF, es que induce la producción de leucotrieno C₄. En cuanto al LTC₄, se conoce su importante papel en la fase lenta del asma, en la reacción de broncoespasmo^{75, 76}. Forman parte también de los mediadores lipídicos, el leucotrieno B₄, el ácido araquidónico y el lípido quimiotáctico eosinofílico, ECL. Estos mediadores lipídicos derivan de los fosfolípidos de la membrana y son generados *de novo* tras recibir un estímulo adecuado.

3. Mediadores proteicos: Entre los mediadores proteicos, se encuentran los neuropéptidos y las citocinas. Los neuropéptidos representan un grupo de neurotransmisores, que han sido originalmente bien identificados en el tejido neuronal, sin embargo se ha demostrado recientemente que algunos de éstos péptidos como por ejemplo la sustancia P, SP, el péptido vasoactivo, VIP o la somatostatina, SOM, son también liberados por los eosinófilos y sirven para modular la secreción de citocinas a través de la regulación de los linfocitos T. Además se ha observado que los eosinófilos liberan SP, *in vitro* cuando se incuban con histamina, y la SP a su vez, se ha comprobado que favorece la degranulación del eosinófilo.

Estudios recientes han demostrado, que el eosinófilo tiene un papel en la producción de algunas *citocinas*, como por ejemplo GM-CSF, IL-3, IL-5 y TGF- β_1 .

f) Receptores de membrana. La membrana del eosinófilo, como la de los linfocitos y otras células inmunes, cuenta con una serie de moléculas en su superficie, a modo de antígenos, que establecen una relación de acoplamiento físico con las moléculas a las que van dirigidas.

1. Generalidades: Algunas de éstas moléculas, situadas en la superficie externa de la membrana celular, aparecen en determinados estadios de su diferenciación o activación celular, durante breves periodos de tiempo y la expresión de éstas moléculas, indica la fase de la vida del eosinófilo en que se encuentra. Los receptores de membrana, reciben el nombre de la molécula para la que está destinada: inmunoglobulinas, citocinas, moléculas de adhesión, mediadores lipídicos y fracciones del complemento. Los eosinófilos segregan mediadores, sustancias pro-inflamatorias y citocinas implicadas en el proceso de la inflamación y en la quimiotaxis de otras células. La liberación específica de cada mediador se realiza dependiendo del receptor de membrana que se active.

2. Tipos de receptores: Cada receptor celular tiene la función de activarse con una molécula soluble específica para la que está destinado y provocar la liberación de una o varias moléculas contenidas en el interior de la célula.

- Inmunoglobulinas: Entre los receptores de superficie de los eosinófilos, encontramos receptores para los distintos tipos de inmunoglobulinas. Con el acoplamiento de determinada inmunoglobulina, se ha comprobado que se liberan selectivamente cada una de las proteínas de sus gránulos⁹⁹.

Hay receptores para la IgE: de baja afinidad $Fc\epsilon RII$ y de alta afinidad: $Fc\epsilon RI$. El receptor para IgA, especialmente la IgA secretora, actúa como un potente agente degranulador, sobre todo para liberar EPO, aunque la IgA también libera todas las proteínas granulares ¹⁰¹. Se ha demostrado que la ECP se libera después de ser estimulado el eosinófilo con IgG, pero esta proteína no responde al estímulo de IgE, la IgE estimula la secreción de EPO. La activación del receptor de la IgG, hace que también se genere la secreción de un potente leucotrieno: LTC_4 ⁹⁵.

Hay un mayor número de éstos receptores en los eosinófilos de pacientes con eosinofilia, que en sujetos normales. Los eosinófilos no suelen expresar receptores para IgM.

En cuanto a la cinética de liberación de las proteínas granulares del eosinófilo, se encuentra un pico en los niveles séricos de EPO, a la hora de la inducción con IgE. En la liberación de ECP, inducida por IgG, el pico se consigue a las 4 horas. Algún estudio reciente ha demostrado niveles de ECP elevados, en las muestras de BALF de asmáticos en la fase tardía del asma ¹⁰⁰.

- Receptores para moléculas de adhesión: Incluye la $\beta 1$ -integrín antígeno de activación muy lenta (very late activation: VLA); $\beta 2$ -integrín; la molécula de adhesión intercelular (ICAM). Algunos de éstos antígenos de superficie, son expresados sólo en el eosinófilo activado. Las moléculas de adhesión, facilitan la salida del eosinófilo del torrente sanguíneo por la adhesión al endotelio microvascular, y están especialmente implicadas en el reclutamiento y la migración de los eosinófilos del torrente circulatorio al interior de los tejidos inflamados.

- Receptores para los factores del complemento: Han sido también identificados en el eosinófilo humano receptores para algunas de las fracciones del complemento: C1q, C3a, C3b/C4b, C3d y C5a, que facilitan la quimiotaxis y la liberación del contenido de los gránulos, en concreto de la ECP^{107, 108}. A través de una técnica de flujo citométrico, se ha comprobado que la estimulación con C3a, provoca un aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular en el eosinófilo que induce la producción de radicales oxigenados, que favorecen la activación del eosinófilo¹⁰⁶.

- Receptores para mediadores lipídicos de la inflamación: Incluyen receptores para la prostaglandina E, PGE, el leucotrieno B₄, LTB₄ y el factor activador de las plaquetas, PAF. Este último representa el más potente estímulo para activar al eosinófilo, induciendo la quimiotaxis, la liberación de sus proteínas granulares y la síntesis de sus propios mediadores lipídicos como el LTC₄, el tromboxano A₂ TXA₂ y la prostaglandina D₂ PGD₂. La acción del eosinófilo puede aumentar de forma sustancial al someterse a la exposición de ciertas citocinas como la IL5 o GM-CSF, que tienen también su receptor específico en la membrana del eosinófilo. Se ha pensado que podría haber dos receptores diferentes para el PAF: uno de alta afinidad, PAF-R1, relacionado con algunas funciones, incluida la degranulación y liberación de mediadores y otro, el PAF-R2, encargado de la liberación de radicales libres de O₂. Aunque no está claro aún, si son dos receptores diferentes o es el mismo, con distintos estados de afinidad⁹⁵. Recientemente se ha descrito por primera vez un receptor para interferón alfa, IFNalpha R, expresado en los eosinófilos humanos cuya activación, inhibe la liberación de las proteínas específicas del eosinófilo, como por ejemplo la ECP, EDN o también la de citocinas como la IL-5¹⁰⁹.

- Receptores para citocinas: Entre ellos se encuentran los receptores para la Interleucina 3, IL3, Interleucina 5, IL5, y GM-CSF. Se ha observado que los receptores de membrana del eosinófilo destinados a las citocinas, se expresan durante la infiltración del eosinófilo en la vía aérea asmática ⁹⁴. Una gran parte de éstos receptores, se encuentran también en otras células leucocitarias de la circulación sanguínea ¹¹⁰. Todos éstos antígenos, pertenecen a la clase I del sistema humano de histocompatibilidad ^{95, 10}

g) Heterogenicidad de los eosinófilos. Varios estudios han demostrado que hay dos poblaciones de eosinófilos en sangre periférica, que se pueden distinguir basándose en su densidad. Los eosinófilos de baja densidad o hipodensos, que corresponden a los eosinófilos activados y los normodensos, de densidad normal, a los eosinófilos sin activar.

Los eosinófilos de baja densidad son las células activadas que resultan de varios procesos sufridos en ella como la exposición a citocinas o mediadores inflamatorios, que ponen en marcha el proceso de activación. Son metabólicamente más activos que los normodensos, presentando un incremento del consumo de oxígeno y de la capacidad de producir anión superóxido, así como de producir y liberar LTC₄. Presentan un mayor número de gránulos y su degranulación parcial es debido a su estado de activación previa ⁹⁸. Se ha observado que los eosinófilos pueden ser degranulados *in vitro* por diferentes estímulos, pasando de la granulolisis a la vacualización, con salida de sus proteínas específicas del citoplasma.

Los eosinófilos hipodensos y degranulados son normalmente observados en mayor número en sangre periférica y BALF de pacientes asmáticos ⁷⁶. Tienen un aspecto al microscopio electrónico de mayor volumen celular, disolución de sus gránulos específicos, con aparición de estructuras vesículo-tubulares y vacuolas más grandes.

Estos eosinófilos hipodensos o activados son más solubles. En el paciente asmático, la subpoblación de eosinófilos hipodensos, está entre el 30 y 65%, siendo mayor el número de eosinófilos hipodensos en asmáticos atópicos, que en los que no tienen sensibilización alérgica^{76, 111, 112, 113, 114, 115, 116}.

h) Activación y degranulación del eosinófilo. Por activación del eosinófilo, se entiende la serie de cambios sufridos por esta célula, necesarios para iniciar la síntesis de sustancias formadas *de novo* y desencadenar la liberación del contenido de los gránulos. Este proceso es indispensable para que el eosinófilo realice su función que se lleva a cabo gracias a varias sustancias activadoras procedentes de células implicadas en la inflamación. Después de la activación, las proteínas de sus gránulos ya están disponibles para ser liberadas, siendo las más tóxicas la ECP y la MBP, cuya presencia en sangre o fluidos, es considerada como marcador de activación eosinofílica. Uno de los efectos producidos por los eosinófilos que acuden a la vía aérea en el asma, es la lesión provocada en el epitelio bronquial, debido a la actividad tóxica de las proteínas de sus gránulos específicos.

Entre los mediadores implicados hay un gran número de sustancias con potenciales propiedades para activar al eosinófilo, que proceden de otras tantas células inmunes y que se pueden clasificar atendiendo a su naturaleza química, en mediadores lipídicos, proteicos y un grupo mixto. Estas sustancias, son liberadas durante la inflamación y contribuyen al reclutamiento de eosinófilos al foco de inflamación y a la liberación de sus productos celulares⁹⁴. Entre ellas se encuentran los mediadores lipídicos, péptidos y mediadores proteicos.

- **Mediadores lipídicos:** Son sustancias derivadas de los fosfolípidos de la membrana y son generados *de novo* tras la estimulación de la célula. Su principal papel es atraer células efectoras al lugar de la inflamación.

Formando parte de ellos se encuentran los leucotrienos y el factor activador de las plaquetas. El PAF es responsable de la reacción de fase lenta en el asma, siendo un potente estímulo para la infiltración de células inflamatorias, produciendo hiperreactividad de la vía aérea. Dentro de las funciones del PAF se encuentra el estímulo para la adhesión del eosinófilo a las células endoteliales.

- **Mediadores peptídicos:** Se han descubierto un gran número de péptidos con la capacidad de estimular al eosinófilo. La sustancia P, SP, induce la liberación del contenido de sus gránulos, probablemente a través de un mecanismo inespecífico. Los péptidos que tienen entre sus componentes formil-metionina, fMLP, tienen poder quimiotáctico frente a numerosas células y muestra similitudes con los factores quimiotácticos generados por las bacterias. Los eosinófilos expresan receptores específicos para fMLP, respondiendo con la degranulación, y con la producción de otros mediadores como el anión superóxido y los mediadores lipídicos.

- **Mediadores proteicos:** Se pueden incluir un elevado número de sustancias entre las que se encuentran las inmunoglobulinas, los factores del complemento y las citocinas. La actividad de los dos primeros grupos se detalla en el apartado de receptores. En cuanto a las *Citocinas*: En los últimos años se han identificado un gran número de citocinas hematopoyéticas: IL-3, IL-5 y GM-CSF, que promueven la eosinofilopoyesis, *in vivo*, prolongando la vida media de los eosinófilos y modulando su funcionalidad *in vitro*. Las principales fuentes de éstas citocinas son los T-linfocitos, los propios eosinófilos y otras células inmunes como los mastocitos.

La IL-3 y el factor GM-CSF, estimulan la generación y posterior secreción de LTC₄. Los eosinófilos en los enfermos asmáticos expresan GM-CSF en cantidades

mayores que en individuos normales. Se ha observado que las citocinas al activar a los eosinófilos, favorecen su cambio de normodensos en hipodensos.

La IL-5, es el más potente estimulador de la degranulación. En el asmático el porcentaje de células que expresan IL-5 es elevado y son, en su mayor parte linfocitos ¹¹⁰. La IL-5, también provoca la adhesión del eosinófilo a las células endoteliales e induce su quimiotaxis *in vitro* e *in vivo*. Se dispone, a nivel comercial de una importante herramienta por la que se pueden determinar niveles en sangre y BAL de IL-5, que facilita la monitorización de la inflamación alérgica, ya que es una citocina selectiva para el eosinófilo, y no juega ningún papel en el reclutamiento de neutrófilos.

La IL-2, aunque no tiene efecto degranulador para el eosinófilo, muestra una potente acción quimiotáctica. La respuesta migratoria del eosinófilo al estímulo de la IL-2, es mediada por la alta afinidad que posee con un receptor localizado en su membrana.

Otro factor quimiotáctico para el eosinófilo, producido por los linfocitos es el llamado factor quimiotáctico de linfocitos, LCF, que es una glicoproteína básica de 56 kDa, sintetizada por los linfocitos T humanos: CD8+ ¹¹⁷.

Se ha demostrado, en estudios realizados *in vitro*, que RANTES, citocina producida por los linfocitos, induce la activación del eosinófilo, por su capacidad quimiotáctica. Tiene también la función de favorecer la liberación de ECP ¹¹⁸.

Otra citocina con propiedades quimiotácticas, es, la IL-8, ya antes conocida como factor quimiotáctico para el neutrófilo, que ha mostrado tener capacidad para atraer y activar al eosinófilo, previamente preparado por GM-CSF, IL-3 y IL-5.

La proteína inflamatoria del macrófago-1 α : MIP-1 α es un potente quimiotáctico para el eosinófilo.

i) Reclutamiento de eosinófilos. Una de las más importantes funciones del eosinófilo, como célula inflamatoria, es acudir al lugar de la lesión, dado que es una célula dotada de movilidad, capaz de responder a los estímulos por el fenómeno de la quimiotaxis. Para ello, se deben poner en marcha mecanismos complejos y perfectamente bien coordinados, como son la liberación de factores quimiotácticos solubles, que atraigan a los eosinófilos al lugar de la inflamación; la adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio vascular; la penetración a través de la pared del vaso; y la migración al lugar de la injuria.

Durante la inflamación broncopulmonar aguda, están involucrados un gran número de mecanismos de inmunidad humoral y celular, que dan lugar al aumento de la permeabilidad vascular, y favorecen el acúmulo y la movilización de una serie de células inflamatorias al interior de los tejidos. Se ha hablado del posible desarrollo de la inflamación, en dos fases, la primera que consistiría en el proceso de reclutamiento de eosinófilos, seguido de una segunda de activación inmunológica.

El proceso de reclutamiento, podría presentar la siguiente secuencia ⁹⁵: 1º.- migración del eosinófilo, comenzando por un contacto con la pared del capilar sanguíneo. 2º.- en el área circundante a la inflamación, los receptores aún no activados del eosinófilo, interactúan con los receptores de las células epiteliales locales activadas, enlenteciéndose el flujo sanguíneo para contar con el tiempo suficiente requerido para la activación de los eosinófilos y posterior liberación de sus mediadores *in situ*. 3º.- difusión de las citocinas, desde el lugar de la inflamación, a través de la barrera endotelial, para continuar la activación del eosinófilo, a través del aumento de la expresión de las moléculas de adhesión. 4º.-

difusión de otros factores quimiotácticos específicos, fundamentalmente RANTES, PAF, IL-2, IL-5, desde el foco de inflamación, para inducir una respuesta migratoria en el eosinófilo, que inicia ahora su paso a través del endotelio, al espacio extracelular. 5°.- las células que sufren la migración, siguen en su movimiento, el sentido del gradiente de los factores quimiotácticos a través del microambiente del foco inflamatorio, guiándose por la mayor concentración de factores quimiotácticos. 6°.- con la proximidad de los eosinófilos al foco de inflamación, va aumentando la fabricación de proteínas básicas específicas de los gránulos del eosinófilo, para su posterior liberación, en el foco inflamatorio. 7°.- en la última fase, la exposición del tejido inflamado y de los propios eosinófilos, a las citocinas y a los otros elementos liberados durante la inflamación in situ, pueden dar lugar o bien al envejecimiento y muerte de éstos con la eliminación a la luz bronquial, o bien prolongarse la supervivencia del eosinófilo, liberando sus mediadores inflamatorios. Esta sería la forma en que se mantendría la inflamación.

Una vez los eosinófilos en el foco de inflamación, las células epiteliales, también ejercen una específica actividad sobre ellos, al producir citocinas con capacidad quimiotáctica y expresar moléculas de adhesión para los eosinófilos.

De los efectos biológicos que causan los eosinófilos que infiltran el epitelio y la submucosa bronquial, el más importante es la lesión provocada en el revestimiento de las células epiteliales, que probablemente induce una hiperreactividad bronquial, debido sobre todo a los efectos de las proteínas granulares, si bien la EDN, apenas produce toxicidad en el epitelio del bronquio ⁴.

j) Interacción con otras células. El eosinófilo es una célula inmunológica compleja que, como parte de su intrincado sistema de actuación, requiere un constante flujo

de información de otras células, inmunológicas también, con las que interactúa. Entre estas células encontramos las siguientes.

1. Mastocitos y basófilos: Aunque de diferente origen, los mastocitos y basófilos tienen un importante papel de cooperación con el eosinófilo y las proteínas específicas de sus gránulos del eosinófilo, ECP, MBP y EPO, colaboran a su vez en la liberación de histamina de basófilos y mastocitos⁹⁴.

Mientras los basófilos circulan a través del torrente sanguíneo e infiltran los tejidos durante la fase lenta de la reacción alérgica, los mastocitos están normalmente distribuidos en el tejido conectivo y son la primera línea de células inflamatorias en las mucosas en contacto con el ambiente exterior en su exposición al alérgeno. Se piensa¹¹⁹ que los mastocitos y basófilos secuestran por endocitosis, las proteínas liberadas por los gránulos del eosinófilo por la presencia de MBP y EPO encontrados en su interior.

Durante la reacción inmediata de hiperreactividad bronquial, mediada por IgE, los mastocitos liberan sus mediadores, que actúan como factores quimiotácticos de los eosinófilos, presentes en la reacción de fase lenta de hiperreactividad. Además los mastocitos ejercen sobre el eosinófilo un importante papel en el proceso de reclutamiento hacia la vía aérea, a través de sus mediadores: el factor quimiotáctico del eosinófilo, ECF, LTB₄, PAF y el ácido hidroxí-eicosa-tetra-énico, y HETE, derivado del ácido araquidónico.

2. Neutrófilos y macrófagos: Ambos pueden contribuir a la respuesta inflamatoria de fase lenta de la que forma parte el eosinófilo, reactivando las citocinas y los radicales oxigenados. Las propiedades tóxicas de macrófagos y

neutrófilos se incrementan considerablemente al entrar en contacto con algunas de las proteínas granulares derivadas del eosinófilo.

3. Células endoteliales: Debido a su estratégica situación, separando la circulación de las células sanguíneas y los tejidos, tiene particular interés la interacción de éstas células con los eosinófilos para la migración al interior de los tejidos. Aunque los mecanismos que facilitan la transmigración de los leucocitos, no son bien conocidos, las células endoteliales tienen una gran importancia por su capacidad de liberar citocinas, sintetizar mediadores lipídicos y expresar moléculas de adhesión, representando al mismo tiempo, un órgano diana para éstos mismos mediadores. Las células endoteliales expresan moléculas de adhesión como ICAM-1, ICAM-2, E-selectin, P-selectin y la molécula de adhesión vascular VCAM-1. Estas moléculas, facilitan la salida del eosinófilo del vaso sanguíneo, para dirigirse al lugar de la inflamación, a través de la interacción entre el eosinófilo activado y las células endoteliales ^{117, 10}. La expresión de VCAM por las células endoteliales, se ve favorecida por la presencia de algunas interleucinas como IL-4. Además se cree que IL-4, podría tener algún papel en la producción de IgE ⁹⁵.

4. Células epiteliales: Los eosinófilos se adhieren a éstas células en su migración a través de la barrera epitelial, para liberarse al espacio broncoalveolar de la vía aérea. Estas células tienen un papel protector de barrera, pudiendo interactuar con las células inflamatorias como por ejemplo los eosinófilos. Las células epiteliales de la vía aérea humana, producen GM-CSF, PAF, PGE₂, PGF₂α y una lipoxigenasa. Estas sustancias, pueden alterar la actividad del eosinófilo, al llegar al espacio broncoalveolar. Al igual que en el endotelio vascular, el epitelio de la vía aérea expresa ciertas moléculas de adhesión para favorecer la adherencia del eosinófilo al epitelio respiratorio, como ICAM-1 ⁹⁵. Se ha determinado la liberación de ECP, de eosinófilos humanos, cultivados con células del epitelio bronquial,

encontrándose que en presencia de citocinas específicas, se provoca la adhesión y posterior liberación de ECP del eosinófilo, observándose, que la aparición de la ECP en el espacio extracelular, es consecuencia de la expresión de las moléculas de adhesión del eosinófilo ¹²⁰.

5. Plaquetas: Un importante hito en el conocimiento de la función de las plaquetas, fue el descubrimiento del receptor para IgE en su superficie celular ⁹⁵. A partir de ese momento se han considerado como células con capacidad inmune que se activan durante la reacción alérgica, liberando sustancias quimiotácticas, fagocíticas y algunos mediadores proinflamatorios. Ciertos estudios realizados en conejos, han demostrado que bloqueando las plaquetas, se consigue prevenir el proceso de broncoespasmo inducido por antígeno específico y que las proteínas granulares del eosinófilo, MBP y EPO, son activadores de las plaquetas ⁹⁴.

6. Linfocitos: Los linfocitos y los eosinófilos, son reclutados simultáneamente al lugar de la inflamación. El papel de los linfocitos en relación con los eosinófilos, es producir y liberar citocinas con actividad quimiotáctica para el eosinófilo. Los linfocitos son la fuente de los dos quimiotácticos más potentes: IL-2 y el factor quimiotáctico del linfocito, LCF.

7. Fibroblastos: Los fibroblastos actúan como favorecedores de la activación de los eosinófilos ^{121, 94}. Se ha observado que la incubación de eosinófilos con fibroblastos, potencian su activación, induciendo su paso a eosinófilos hipodensos, favorecen, además, sus funciones efectoras y aumentan su vida media. Con respecto a la ECP, la acción de esta proteína sobre los fibroblastos de la pared bronquial por el aumento de la producción de ácido hialurónico favorece la aparición de fibrosis en la vía aérea.

I. 2. 3. Proteína catiónica eosinofílica en la inflamación bronquial

La eosinofilia en sangre, bronquios y esputo, ha sido asociada tradicionalmente con el asma bronquial ⁶. Durante mucho tiempo, éstas células, se han relacionado con el asma y en los tratados clásicos de literatura médica, se llamaba a ésta enfermedad: “bronquitis eosinofílica”.

El rasgo más característico del asma es la inflamación bronquial, que da lugar a crisis de obstrucción bronquial reversibles espontáneamente o con broncodilatadores, así como a una inespecífica hiperreactividad de los bronquios ^{95, 122, 123, 124}. Aunque hay observaciones discordantes acerca de la importancia del eosinófilo en la patogénesis del asma, se tiene certeza del importante papel que juega en la inflamación de la vía aérea ^{11, 74}. Consecuencia de ello es la tendencia en una gran parte de las publicaciones relacionadas con este tema a utilizar los niveles de los mediadores liberados por el eosinófilo para determinar el grado de participación del eosinófilo en determinado proceso inflamatorio.

Durante mucho tiempo, la determinación de mediadores en fluidos biológicos en la reacción asmática, se consideró una tarea de experimentación muy laboriosa, debido a la complejidad de los estudios inmunoquímicos. A ésta complejidad, contribuía, el que los mediadores liberados durante las reacciones inmediatas o tardías, sólo se detectaban durante periodos muy breves de tiempo y en cantidades mínimas.

La ECP ha sido medida en diferentes fluidos orgánicos de algunas enfermedades alérgicas, encontrando un aumento de sus niveles en diferentes fluidos ¹⁰. Sin embargo está claramente demostrada la no implicación del eosinófilo en otras enfermedades inflamatorias como por ejemplo la artritis reumatoide, la enfermedad inflamatoria intestinal, la psoriasis, la meningitis bacteriana por mencionar algunas.

Los niveles de ECP pueden ser medidos en cualquier fluido orgánico. El nivel encontrado en fluidos locales es, en general, reflejo del nivel hallado en suero. Los niveles séricos normales de ECP oscilan entre 3-5 mcg/l, con un límite superior de normalidad de 20 mcg/l ⁹⁵.

Para la determinación en el laboratorio de los niveles de proteína catiónica eosinofílica se utiliza un reactivo, comercializado recientemente, compuesto por una IgG específica anti ECP, procedente de suero de conejo. Esta sustancia al ponerse en contacto con el suero problema determina los niveles de ECP ⁹⁹. Para su determinación en el laboratorio, se requieren unos medios técnicos, que van resultando cada vez más sencillos. La ECP, una vez fuera del torrente sanguíneo, experimenta un discreto catabolismo en el suero, que no afecta de manera sustancial a los valores reales del paciente ^{125, 126}.

a) Papel de la proteína catiónica del eosinófilo en el asma. Recientemente se han realizado numerosas investigaciones, con el fin de profundizar en el papel específico que tienen los eosinófilos en la inflamación asmática. Uno de los datos, que se conocen desde hace tiempo, es que durante la reacción asmática, se lleva a cabo una activación de los eosinófilos y liberación de los mediadores, contenidos en su interior, que provocan una reacción de broncoespasmo ¹¹. Estos mediadores se pueden encontrar *in situ*, en los fluidos orgánicos del lugar de la inflamación, como el fluido del lavado bronco-alveolar, en secreciones nasales, y también en suero ^{10, 123, 94, 126, 127}.

En los últimos 5 años, ha habido importantes cambios en cuanto a la orientación diagnóstica del asma. Estos cambios se han debido, en parte, al desarrollo de técnicas inmunoquímicas mucho más sencillas en su aplicación, que determinan los

niveles en fluidos orgánicos de los mediadores específicos de las células, implicadas en la inflamación asmática, concretamente el eosinófilo y también el mastocito.

b) ECP y asma en la infancia. También en el asma en la infancia, juega un importante papel la inflamación eosinofílica, al igual que en otros grupos de edad. En presencia de un estímulo alérgico o infeccioso, tiene lugar una respuesta inflamatoria, con activación del eosinófilo y aumento de mediadores contenidos en sus gránulos, como la ECP.

1. Niveles de ECP en el asma infantil: Se ha encontrado una estrecha relación, entre el aumento de los niveles de ECP en suero y el deterioro de la función pulmonar en los niños. Un estudio ⁵ llevado a cabo para determinar las concentraciones de ECP en pacientes pediátricos con asma sintomático, con asma no sintomático y en controles sanos, obtuvo niveles claramente mayores de ECP para el primer grupo que para el segundo, y cualquiera de estos dos grupos obtuvo niveles mayores que en los controles no asmáticos, concluyéndose que hay una activación eosinofílica, reflejada en la elevación de la ECP en sangre, que podría predecir el riesgo de un episodio agudo de asma, sugiriendo que estos valores en sangre periférica manifiestan la actividad inflamatoria en la vía aérea.

Otros estudios ^{96, 122, 128}, confirman el factor predictor de la ECP, para la crisis de asma, detectándose niveles elevados de ésta proteína, incluso antes de haber aparecido una alteración de la función pulmonar. Demostrándose, además, que los mayores niveles de ECP en asmáticos polínicos, se encuentran durante la estación del polen ⁹.

Sin embargo, la importancia del recuento de eosinófilos totales en sangre periférica no ha sido completamente establecida, ya que no reflejarían el número de

eosinófilos activados, que son los preparados para liberar ECP. Se ha observado por microscopía electrónica, que en los asmáticos, la relación entre el área de gránulos específicos del eosinófilo, con respecto a todo el citoplasma: SG/C, era mayor que en los controles sanos, y que la relación entre el área degranulada con respecto al resto del citoplasma: D/C, era mayor en los asmáticos, ya que eran eosinófilos que habían liberado sus proteínas al ambiente extracelular.

2. Niveles de ECP tras la provocación con alérgeno: Al igual que en el asma del adulto, después de la provocación con alérgeno hay una respuesta inflamatoria en la que intervienen el eosinófilo y sus mediadores de la inflamación. Se han encontrado dos patrones bien diferenciados de respuesta a la provocación bronquial en niños asmáticos, en cuanto a los tiempos de liberación de proteínas eosinofílicas ECP y EPX, en las 24 horas siguientes ¹²⁹: una elevación precoz, en los primeros 60 minutos, que podría corresponder a cambios precoces y fugaces en la activación de los eosinófilos, o bien una respuesta tardía a partir de las 12 horas de la provocación. Esta segunda elevación podría explicarse por la proliferación y reclutamiento de los eosinófilos, tras la provocación con alérgeno, seguido de la liberación de las proteínas eosinofílicas. Algunos otros ensayos ⁶, sin embargo, no obtienen liberación en las primeras 24 horas sino más tarde, lo cual sugeriría, que los niveles de ECP, reflejan de manera más fiel, la inflamación crónica que la aguda del asma en los niños.

3. Respuesta de ECP al tratamiento antiinflamatorio: Se ha observado un importante descenso en los niveles de ECP después del tratamiento de esteroides inhalados en enfermos asmáticos. Esto es debido al efecto inhibitorio directo sobre la activación del eosinófilo ¹³⁰. Se han publicado diversos resultados de trabajos realizados en niños con asma alérgica ^{74, 5, 12, 7, 8, 96, 79}, en los que se determinan los valores de ECP, antes y después del tratamiento con budesonida, observándose una

mejoría en los parámetros de la función pulmonar: FEV₁ y PEF y una caída de los niveles de ECP. Todo ello sugiere que la ECP, puede ser un buen indicador de la efectividad del tratamiento antiinflamatorio, particularmente en niños atópicos.

El grupo de Venge, de Uppsala, Suecia ¹³¹, comparó en niños asmáticos alérgicos de una parte el efecto del tratamiento esteroideo combinado con la inmunoterapia, y de otra el efecto del tratamiento con cromonas en el mismo grupo de niños. Evaluó tanto los síntomas clínicos como los valores de ECP. En sus resultados se observaron que en el grupo tratado con esteroides e inmunoterapia, los niveles de ECP descienden después del tratamiento, y mejoran los síntomas clínicos. En cambio, el grupo tratado con cromoglicato mantiene los niveles de ECP elevados, aunque mejoran clínicamente.

Una posible explicación es que son necesarios dos hechos para que los eosinófilos se activen y den lugar al desarrollo del asma, en primer lugar, una población de eosinófilos activados y en segundo lugar la producción de los factores quimiotácticos originados en el pulmón, que atraigan a los eosinófilos activados. En el caso del tratamiento hiposensibilizante, éstos dos factores están inhibidos, mientras que en el tratamiento con cromonas, se inhibe sólo la actividad quimiotáctica, no modificándose la población de eosinófilos activados en sangre periférica por lo que se sigue observando la elevación de los niveles de sus proteínas eosinofílicas en suero porque seguiría actuando el alérgeno ^{10, 3}.

A la luz de éstos datos, algunos investigadores, han insistido en las ventajas que tiene la monitorización de la ECP, también en el asma infantil, para llevar a cabo un buen seguimiento de la evolución del asmático que recibe medicación antiinflamatoria ^{12, 10, 130}. No obstante, aún son necesarios más estudios para contrastar éstas afirmaciones, ya que, no se puede recomendar un aumento de la

medicación antiasmática con el sólo dato de una elevación de ECP, en ausencia de alteración de la función pulmonar y de sintomatología clínica ^{5, 74}.

c) Niveles de ECP en la bronquiolitis y sibilancias del lactante. Se ha querido determinar si, como en el asma, la ECP juega un papel determinante en la patogénesis de la bronquiolitis, es decir, si es el eosinófilo una de las células inflamatorias que intervienen en el proceso y si mantiene su activación, participando en el desarrollo de sibilancias posteriores al episodio de bronquiolitis. Por ello se está estudiando, con más intensidad en los últimos años, el papel de los mediadores de la inflamación en la bronquiolitis por VRS ^{4, 132, 133, 134} y en las sibilancias de los niños menores de 2 años ^{135, 136}.

La ECP en secreciones nasofaríngeas de lactantes con diversas formas de infección por VRS ¹³⁵ es significativamente más elevada: 166 ng/ml, en el grupo de bronquiolitis que en los que no tuvieron bronquiolitis: 29 ng/ml. Los valores elevados de ECP: > 50 ng/ml fueron predictivos en el desarrollo de bronquiolitis y los valores de ECP se correlacionaron con la severidad de los síntomas. Valores elevados de ECP en secreciones nasofaríngeas durante la fase aguda de la bronquiolitis ¹³⁷, son predictivos para el desarrollo posterior de sibilancias y los niveles de ECP sérica durante la fase aguda de la enfermedad ¹³⁴, son específicos en cuanto a la predicción de sibilancias pero poco sensibles.

Se ha encontrado una buena correlación ¹³² entre los niveles elevados de ECP y el deterioro de la función pulmonar, determinado por el flujo espiratorio a volumen corriente, de los lactantes con sibilancias.

d) Determinación de ECP in vitro. La inflamación bronquial es una característica del asma que puede ser detectada a través de la presencia de las células

inflamatorias o, como se ha recordado anteriormente, de forma indirecta por la detección de los marcadores de la inflamación de las células responsables del proceso, sobre todo del eosinófilo, en diferentes fluidos del organismo ¹²³. Se han realizado numerosos estudios, con la finalidad de obtener una mayor información acerca de las células y marcadores responsables del proceso ^{93, 138, 122}.

Hasta fechas recientes, el estudio de las lesiones del epitelio respiratorio del asmático, se había limitado al examen de muestras necrópsicas de asmáticos que padecieron crisis de evolución fatal. Sin embargo el uso de la broncoscopia, para la obtención de muestras en las primeras fases del asma, ha permitido que se comprenda mejor la evolución de los cambios anatomopatológicos de esta enfermedad. Se ha dado un paso más con los avances en microscopía electrónica e inmunoquímica, para la determinación de los diferentes marcadores celulares con técnicas cada vez más asequibles ¹³⁹.

Algunos de los estudios de anatomía patológica realizados en asmáticos, han mostrado que la presencia de eosinófilos y de sus proteínas granulares en BAL, esputo y en muestras de biopsia de pared bronquial, están relacionados con el grado de lesión del epitelio y engrosamiento de su membrana basal, demostrándose un aumento de éstas células en el bronquio del asmático ^{110, 10, 3, 4, 11, 12, 140, 141} aunque no todos los trabajos coinciden en estos resultados ^{12, 117}.

Tras la provocación bronquial con alérgeno en pacientes asmáticos ⁷⁷, se ha observado que en aquellos pacientes que desarrollan una reacción asmática de fase lenta, decrecen los eosinófilos circulantes en el compartimento vascular e incrementan su número en BAL, encontrándose un mayor número de eosinófilos hipodensos y degranulados en dicho fluido.

En un ensayo realizado en animales se instiló ECP en el interior de la vía aérea, observándose en las biopsias realizadas una relación entre las cantidades de ECP instiladas y el grado de denudación de la superficie de su epitelio ⁶.

La intensidad de las lesiones encontradas en los bronquios del asmático, se relacionan con el grado de reactividad bronquial. El objetivo de algunos de los estudios realizados en asmáticos, fue relacionar la hiperreactividad bronquial, a través de la prueba de provocación con metacolina, con la mayor o menor cantidad de ECP depositada en el tejido bronquial, encontrándose una relación directa entre ambos ^{96, 122, 11}.

Algunos ensayos han observado que después del tratamiento con esteroides inhalados, se encuentra una importante disminución de la hiperreactividad bronquial, así como un descenso en el número de eosinófilos en la lámina propia del bronquio de los enfermos asmáticos ¹⁴².

A pesar del indudable papel del eosinófilo en la respuesta asmática, en la mayoría de éstos enfermos, los recuentos de eosinófilos en sangre, son normales o ligeramente elevados, y no se observa una correlación con los síntomas clínicos, debido a que éste parámetro no permite distinguir, cual es la subpoblación de esinófilos activados, siendo necesario, por tanto, disponer de algún otro tipo de marcador de activación eosinofílica como es la ECP ⁹⁶.

I. 3. PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR EN EL LACTANTE

Se conocen como pruebas de función pulmonar a aquellas técnicas instrumentales que cuantifican alguna propiedad de la función respiratoria. Los resultados

obtenidos con estas técnicas son de gran ayuda para cuantificar, con la objetividad de un valor numérico, el grado de afectación de alguna de estas propiedades pulmonares ¹⁴³.

Las pruebas de función pulmonar tienen por objeto ayudar a determinar qué propiedad respiratoria ha sido dañada principalmente, siendo una importante herramienta para establecer un diagnóstico etiológico, pues cada enfermedad pulmonar lleva consigo unas alteraciones fisiopatológicas propias.

No han estado disponibles hasta fechas recientes, para su utilización en el lactante y niño pequeño ¹⁴⁴, por la dificultad que supone la falta de colaboración para realizar la exploración, en estas edades. Por ello la exploración de la función pulmonar del lactante, tiene características que la hacen diferente de la del niño mayor y el adulto.

En ésta última década se han desarrollados para el estudio de la función pulmonar en lactantes métodos novedosos ^{13, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 165 y 132}. Debido a éstos avances se ha empezado a difundir, tímidamente, la práctica del estudio de la función pulmonar en este grupo de edad. Este tipo de pruebas deben realizarse con sedación o basarse en la respiración tranquila, a volumen corriente, intercalando, en ocasiones, algunas maniobras como las oclusiones momentáneas o forzando de alguna manera la espiración para imitar la espirometría del adulto, que es la prueba de oro de la función pulmonar. Estos procedimientos fueron iniciados en 1989 y un informe elaborado por la American Society and European Society for Clinical Respiratory Physiology publicado en 1993 recoge las recomendaciones de estandarización de los test de función pulmonar en pediatría ^{13, 165}.

Con las pruebas de función pulmonar realizadas en los lactantes es posible medir indirectamente el calibre de las vías aéreas a través de la medida de los flujos

espiratorios, al igual que se hace en los adultos. También es posible determinar las propiedades mecánicas del sistema respiratorio. La distensibilidad y la resistencia son los parámetros que mejor definen sus propiedades mecánicas.

La distensibilidad se define como la relación entre el incremento de volumen y el incremento de presión que lo produce. Se puede aplicar al pulmón aisladamente o al sistema respiratorio en su totalidad, que es la suma de la distensibilidad del pulmón y de la caja torácica. La distensibilidad de la caja torácica en los lactantes, es grande y constituye un factor que modifica poco los resultados obtenidos para la distensibilidad pulmonar aislada. Por ello se puede utilizar la distensibilidad total del sistema respiratorio, es decir del pulmón y de la caja torácica, por ser más sencilla su medición que la de la distensibilidad pulmonar.

I. 3. 1. Técnicas para la medida de la función espiratoria

Entre las pruebas funcionales para medir la espiración, *la espirometría*¹⁵¹ es la mejor prueba para detectar y cuantificar el patrón obstructivo bronquial y resulta una prueba eficaz para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulmonares en adultos y niños mayores. Sus valores han sido bien estandarizados y tiene un papel muy importante en la evaluación clínica de la patología de la vía aérea intratorácica.

Debido a la evidente falta de colaboración de los lactantes, ésta exploración es imposible de realizar en ellos. Por este motivo, desde siempre se ha querido encontrar una prueba similar que imite la espirometría y obtenga resultados comparables¹⁵².

En la figura 1 se pueden ver las dos curvas flujo volumen correspondientes a una espirometría “tradicional” que comienza en la capacidad pulmonar total y acaba en el volumen residual y la curva conseguida con la espiración parcial forzada con chaquetilla neumática que comienza al final de una espiración a volumen corriente y acaba mucho antes del volumen residual.

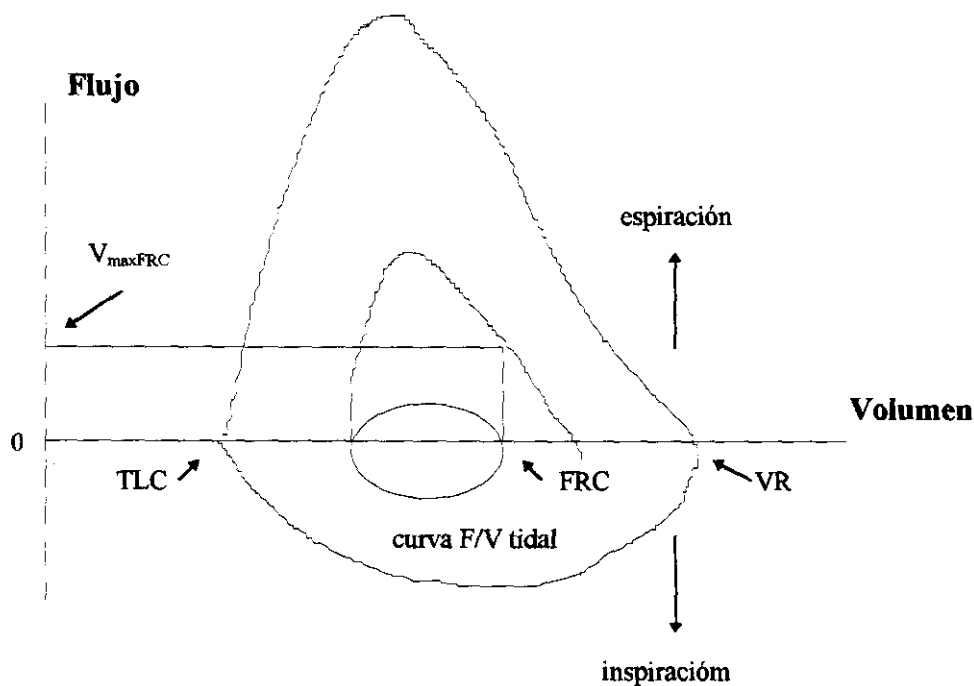


Figura 1. Comparación de las curvas flujo/volumen de una espirometría: curva situada en el exterior y curva correspondiente a la “espiración parcial forzada con chaquetilla la curva del interior. Los diferentes volúmenes y capacidades utilizadas corresponden VR: volumen residual. TLC: capacidad pulmonar total. FRC: capacidad funcional residual.

Para provocar una espiración forzada en un lactante sólo hay dos posibilidades: comprimir desde fuera o aspirar desde el interior de la vía aérea. Se han desarrollado recientemente, dos técnicas para medir el flujo-volumen en la espiración forzada en lactantes.

La primera ¹⁵² es la compresión rápida toraco-abdominal con la técnica de “espiración parcial forzada con chaquetilla neumática”, descrita por primera vez por Adler en 1978. Es la primera técnica no invasiva utilizada en el lactante y puede ser utilizada para valorar la fisiología de la vía aérea del lactante tanto sano como enfermo, contribuyendo de manera importante al conocimiento de su función pulmonar, en cuanto al calibre bronquial y a la función espiratoria.

La segunda técnica para el estudio de la función espiratoria en el lactante y el niño pequeño es la “técnica de deflación forzada”, descrita en 1977 por Motoyama ^{13, 165}. Con ésta técnica se distienden los pulmones con aire a presión para posteriormente aplicar una súbita presión negativa y conseguir una espiración forzada. Esta técnica, tiene la desventaja de que precisa intubación endotraqueal para su realización, limitando su uso casi exclusivamente a las unidades de cuidados intensivos.

a) *Espiración parcial forzada con chaquetilla neumática* ^{44, 45, 51, 55, 56, 60, 145, 146, 152, 153}. Fue descrita por primera vez en 1978 por Adler y más tarde modificada por Taussig. Es una prueba de función pulmonar que, aunque por el momento está reservada a estudios de investigación y no se realiza de forma rutinaria en la clínica, es cada vez mayor el número de laboratorios de función pulmonar que cuentan con ella y los estudios publicados que incluyen ésta técnica de estudio de la función pulmonar del lactante.

Para la realización de esta prueba se coloca una chaquetilla inflable alrededor del tórax y abdomen del niño que es usada para la espiración forzada al final de una inspiración a volumen corriente. Para la medida de los flujos espiratorios se coloca sobre la nariz y boca una mascarilla que está unida a un neumotacógrafo. Con ésta maniobra se obtiene una curva flujo/volumen, cuyo parámetro más utilizado en los lactantes es el $V_{\max FRC}$: máximo flujo a nivel de la capacidad funcional residual FRC, quizá porque es el que mejor refleja el grado de obstrucción de la pequeña vía aérea.

La aplicación de ésta técnica ha facilitado abundante información acerca del crecimiento normal del pulmón en las primeras etapas de la vida, ayudando también en el conocimiento de la fisiopatología y la evolución de las enfermedades agudas y crónicas pulmonares, el efecto de los fármacos broncodilatadores y la respuesta a la provocación bronquial, dándonos una valiosa información de la vía aérea intratorácica ^{13, 83, 145, 148, 149, 165}. Estudios epidemiológicos han sugerido que el hallazgo de la función pulmonar alterada predice episodios de sibilancias y determina la incidencia de patología en la vía aérea periférica.

Sin embargo se han encontrado algunos inconvenientes en la aplicación de esta técnica.

El primero de ellos es relativo a la medida del parámetro $V_{\max FRC}$ a nivel de la FRC, debido a que el volumen correspondiente a la FRC tiene una gran variabilidad dentro de un mismo niño porque los lactantes inician a veces la inspiración antes de haber finalizado la espiración del ciclo respiratorio anterior, para obviar este problema se precisan al menos tres respiraciones a volumen tidal para establecer el FRC. Si la variabilidad es muy grande no se admite como buena dicha maniobra. La figura 2 muestra un ejemplo.

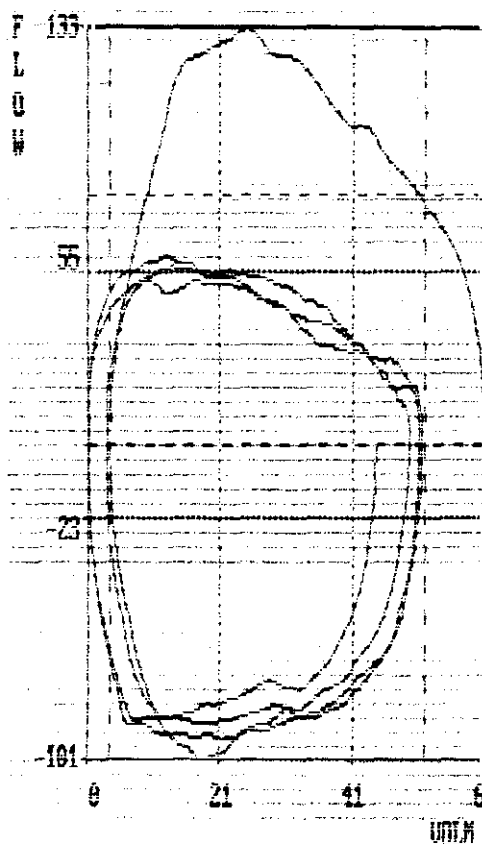


Figura 2. Curva flujo-volumen con técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” con tres ciclos respiratorios a volumen tidal similares para establecer el FRC.

Un segundo inconveniente es la transmisión de la presión externa a la vía aérea, aunque los músculos respiratorios apenas interfieren en la transmisión de la presión durante la expiración forzada. Las chaquetas utilizadas para la maniobra que poseen una buena capacidad para transmitir la presión, transmiten más del 59% de la presión a la vía aérea. Para saber con precisión la presión transmitida, se podría medir la presión esofágica que es similar a la presión intrapleurar, pero presenta el inconveniente de que es una técnica invasiva, y no suele utilizarse.

Alguno de los aspectos relativos a la metodología de la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” en la que es necesaria la sedación con hidrato de cloral para la realización de la maniobra, ha sido discutido por su posible efecto sobre la fisiología respiratoria^{154, 155, 156, 47}. En ciertos estudios realizados

en lactantes sanos se ha demostrado que la administración de hidrato de cloral no altera la frecuencia cardíaca, respiratoria ni la saturación de O_2 ¹⁵⁵, sin embargo otros ¹⁵⁴ advierten que disminuye el volumen tidal y aumenta la obstrucción a nivel de la vía aérea superior. Con respecto a lactantes con distrés respiratorio, sí parece que el efecto del hidrato de cloral ⁴⁷ provoca una pequeña caída de la saturación de O_2 , aunque el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono se ha mostrado que son sólo levemente más elevados bajo sedación con hidrato de cloral.

Para la realización de la maniobra se cuenta con una tecnología que posee los siguientes componentes:

1º Un sistema informático que elabora los gráficos, mostrando los valores reales y los previstos para cada paciente, en un monitor y calcula los diferentes parámetros de la función pulmonar ^{13, 145, 149, 165}. 2º Un neumotacógrafo que mide el flujo y un transductor de presión. 3º Una chaquetilla neumática que produce la espiración forzada. La chaquetilla está conectada a un reservorio de aire comprimido a través de un tubo de plástico corrugado, que llena la chaquetilla de aire, a mayor o menor presión según lo determine el investigador que realiza la prueba. Este reservorio a su vez está unido a la unidad central del sistema informatizado.

Los requisitos para la realización de la técnica son que el niño tenga una respiración tranquila, sin llorar, lo cual suele conseguirse con el sueño natural en el neonato, o inducido por la sedación, en el lactante o niño pequeño.

Para la sedación se emplea hidrato de cloral a dosis de 50 a 100 mg/Kg dado por boca o por vía rectal (el Tricofos sódico, es el metabolito activo del hidrato de cloral: 1g de tricofos sódico equivale a 600 mg de hidrato de cloral. Para niños con una adecuada función renal y hepática éstas dosis son consideradas seguras). Una

vez dormido se coloca la mascarilla sobre la cara del niño, incluyendo nariz y boca. La mascarilla está unida a un neumotacógrafo para la medición del flujo. Se coloca la chaquetilla rodeando el tórax-abdomen del niño, con los brazos por fuera de tal manera que no impida la normal respiración. Después de haber realizado varias respiraciones tranquilas a volumen corriente, que deben ser regulares y pueden verse en el monitor, al final de una inspiración, se aplica una compresión rápida en el tórax-abdomen del niño, por el inflado de la chaquetilla neumática, que da lugar a una espiración forzada. Esta compresión se debe mantener durante 1 segundo, tiempo recomendado para el estudio de lactantes con obstrucción bronquial. Una vez finalizada la compresión vuelve a vaciarse la chaquetilla, que queda a presión ambiental.

Con la maniobra de espiración forzada, se genera una curva espiratoria flujo/volumen, que es de mayor tamaño que la obtenida a volumen corriente, quedando, al finalizar la maniobra de la espiración forzada, un volumen pulmonar menor que el que queda al finalizar la espiración a volumen corriente.

La forma de las curvas flujo/volumen es un dato de gran interés porque tiende a mostrar el estado de mayor o menor obstrucción de la vía aérea. Las curvas más convexas, en su rama descendente que corresponde a la espiración, son características de lactantes normales, mientras que las más cóncavas reflejan un patrón de obstrucción bronquial, con un valor de V_{maxFRC} muy superior al flujo máximo alcanzado en la espiración a volumen corriente.

Las presiones necesarias para obtener una espiración forzada son de 40 a 80 o incluso 100 cmH₂O (10 cmH₂O= 1 kPa) . Se suelen realizar varias maniobras con distintas presiones, comenzando por las menores para paulatinamente ir aumentando, consiguiendo así flujos espiratorios crecientes, cada niño tiene una

presión ideal, para obtener un máximo $V_{\max FRC}$, si esta presión se supera las curvas obtenidas son progresivamente más concavas. En niños con una obstrucción severa pueden utilizarse presiones de 40 cm de H_2O o menos, porque presiones mayores darían lugar a un colapso dinámico de la vía aérea, que tiene su calibre ya bastante limitado.

Criterios para la validez de los datos del estudio. Las curvas obtenidas con la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” deben cumplir algunos requisitos.

1° Escasa variación entre las tres asas de las respiraciones a volumen tidal, previas a la maniobra.

2° Comienzo de la expiración forzada cercano al comienzo de la expiración a volumen tidal y pico de flujo máximo antes de la mitad del volumen tidal.

3° Final de la expiración forzada a menor volumen que FRC.

4° Ausencia de interrupción del flujo espiratorio por un cierre reflejo de las cuerdas vocales.

Si la curva no reúne estas condiciones se debe rechazar y no deberá ser incluida en el estudio. Para la obtención de resultados es recomendable realizar al menos tres curvas con la misma presión, que no difieran en su valor más del 10%. Algunas recomendaciones¹⁵² indican que el valor final de $V_{\max FRC}$ debe ser obtenido de la media de sus cuatro mejores determinaciones, justificando esta recomendación en la variabilidad de FRC, pero este criterio parece contradictorio con el concepto de parámetro de máximo flujo.

La forma de la curva del lactante con patrón obstructivo tiene una menor convexidad en la porción espiratoria de la curva, hasta en casos extremos hacerse cóncava, con valores de V_{maxFRC} , que incluso no superen los de la espiración de la curva a volumen corriente. Las figuras 3a y 3b muestra la curva flujo/volumen correspondiente a un patrón normal y obstructivo.

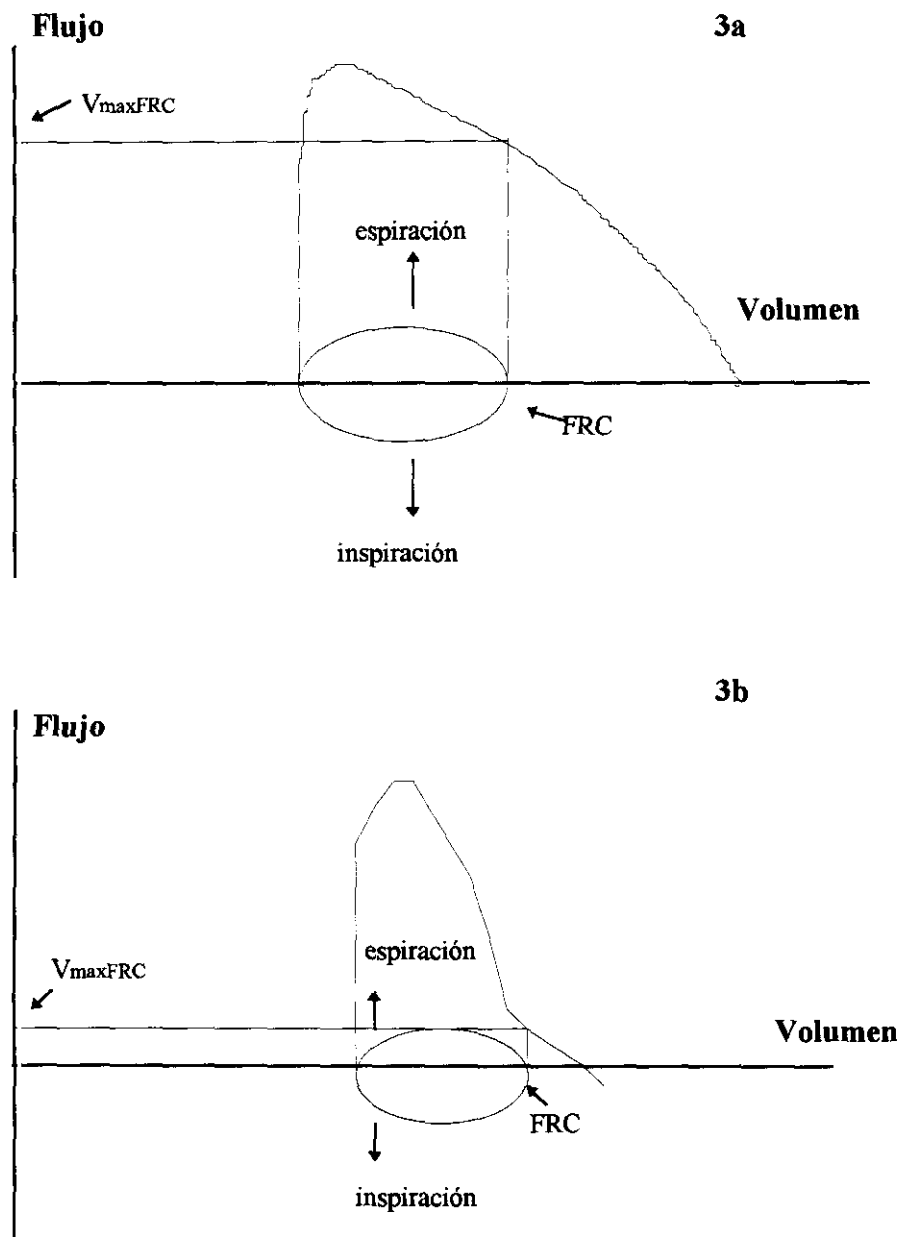


Figura 3a. Esquema de la curva flujo/volumen obtenida con la maniobra de “espiración parcial forzada con chaquetilla neumática” para la obtención del $V_{\max FRC}$ correspondiente a un patrón normal. 3b. Curva flujo/volumen correspondiente a un patrón obstructivo. Puede observarse la diferencia de flujo $V_{\max FRC}$ entre ambas curvas normal y con obstrucción.

Los valores de referencia de normalidad son debidos a tres estudios realizados hasta ahora en niños americanos sanos ^{13, 165}. El primero realizado en Tucson, Arizona, por Tepper en 1986, con 120 lactantes sanos, casi todos menores de 12 meses. El segundo elaborado por Hanrahan en Boston en 1990, con 70 lactantes sanos, en su primer año de vida, y el tercero de nuevo por Tepper, en 1993, con 117 niños sanos con edades comprendidas entre 12 y 36 meses de vida. En la primera serie de Tucson fue medido el V_{maxFRC} y fue relacionado con la talla a través de la siguiente ecuación: $V_{\text{maxFRC}} (\text{ml} \times \text{s}^{-1}) = 4.5 \times \text{talla}(\text{cm}) - 123$. En el estudio de Boston $V_{\text{maxFRC}} (\text{ml} \times \text{s}^{-1}) = 9.67 \times \text{talla}(\text{cm}) - 399.8$. Hay también un estudio reciente realizado por Martínez A. en lactantes españoles ¹⁵⁷, que es el primero realizado en nuestro país. En el que V_{maxFRC} guarda relación con la talla de la siguiente manera: $6,8 \times \text{talla}(\text{cm}) - 251,6$.

b) Medida de la curva de flujo-volumen tidal. Recientemente se han ensayado otros procedimientos para medir el flujo espiratorio, principal parámetro para determinar la obstrucción bronquial ^{132, 158}. La técnica que mide la curva flujo-volumen a volumen corriente, puesta en marcha hace pocos años, analiza la porción espiratoria de las curvas. Se emplea en neonatos y niños pequeños que la realizan sin necesidad de sedación.

Para la realización de la técnica se utiliza una mascarilla facial conectada a un neumotacógrafo que mide el flujo respiratorio. El volumen se calcula por integración frente al tiempo a partir del flujo. Las curvas son analizadas por un sistema informatizado y son calculados diferentes parámetros respiratorios como la relación entre el tiempo de pico de flujo espiratorio y el tiempo espiratorio total ($t_{\text{PEF}}/t_{\text{E}}$) y los volúmenes pulmonares siguientes: el volumen exhalado hasta el punto de pico flujo: V_{PEF} , el volumen espiratorio total: V_{E} y la relación del primero con respecto al segundo: $V_{\text{PEF}}/V_{\text{E}}$. Las relaciones $t_{\text{PEF}}/t_{\text{E}}$ y $V_{\text{PEF}}/V_{\text{E}}$ están alterados en el

caso de los lactantes con patología obstructiva. Al ser una técnica que se ha empezado a aplicar recientemente es necesario contrastar los resultados de los diferentes estudios para confirmar los datos obtenidos.

1. 3. 2. Técnicas para la medida de la distensibilidad y la resistencia^{13, 14}

Las dos principales propiedades mecánicas del sistema respiratorio son la distensibilidad y la resistencia. La distensibilidad es la relación entre el incremento de volumen conseguido en el pulmón y el incremento de presión que lo produce. Da una medida de la tendencia a la expansión del sistema respiratorio, que es directamente proporcional al aumento de volumen e inversamente proporcional a la presión aplicada para distender el pulmón. Es la propiedad mecánica responsable de mantener expandido el pulmón por lo que siempre es positiva en situación de reposo para contrarrestar la tendencia al colapso del pulmón.

La resistencia es la propiedad de los fluidos por la cual encuentran cierta oposición a su movimiento por el interior de una estructura hueca. Es el cociente de la diferencia de presiones entre dos puntos y el flujo aéreo generado. El flujo puede medirse en la boca, pero la diferencia de presiones, es distinta dependiendo de la resistencia que se desee medir.

Para el cálculo de estas dos propiedades tanto del sistema respiratorio en su conjunto como del pulmón aisladamente, son necesarios algunos parámetros, como son las presiones en el sistema respiratorio; las diferencias de presión y los cambios de volumen.

En primer lugar se precisa la determinación de las presiones en los diferentes compartimentos del sistema respiratorio: presión de la boca, presión alveolar, presión pleural, la presión esofágica se puede considerar muy aproximada a la presión pleural, y presión en la superficie corporal. Y las diferencias de presión entre los distintos puntos. Las diferencias de presión, a distintos niveles de la vía aérea, son las que determinan el movimiento del fluido aéreo: la presión transpulmonar es la diferencia de presión que se encuentra entre la presión en la boca y la presión pleural; la presión transtorácica es la diferencia entre la presión pleural y la de la superficie corporal. El movimiento de aire generado por las diferencias de presión entre los distintos compartimentos del interior de la vía aérea determina los distintos cambios de volumen por las diferentes presiones.

La distensibilidad se define como la relación entre el incremento de volumen y el incremento de presión que lo produce. Su valor se obtiene de la relación entre la presión aplicada en un punto y el incremento de volumen obtenido. Con las diferentes presiones encontramos diferentes valores de la distensibilidad en los distintos compartimentos del sistema respiratorio. Con la presión transpulmonar medimos la distensibilidad y resistencia del pulmón, prescindiendo de la caja torácica, aunque en los lactantes jóvenes la caja torácica: costillas y músculos intercostales, contribuye poco a la distensibilidad total del sistema respiratorio. Con la presión transtorácica podemos medir la distensibilidad y resistencia de la caja torácica.

La resistencia se define como el cociente entre la diferencia de presión y el flujo generado entre dos compartimentos de la vía aérea.

Hay dos tipos de técnicas para medir la distensibilidad y la resistencia del sistema respiratorio y sus compartimentos: Dinámicas y estáticas o pasivas, cuya diferencia

se basa en la forma de medir éstos dos parámetros. Con movimientos respiratorios las primeras y en ausencia de actividad de los músculos respiratorios las segundas.

a) Tipo de pruebas.

1. Dinámicas: De esta manera se miden las propiedades mecánicas del pulmón: distensibilidad y resistencia durante un movimiento respiratorio normal.

2. Estáticas: Incluyen todas las técnicas basadas en maniobras de oclusión. Con ellas se trata de obtener, de forma indirecta mediante alguna manipulación sobre el ciclo respiratorio normal, el valor de ciertas presiones que no son fácilmente accesibles. Con éstas técnicas obtenemos la distensibilidad y resistencia totales del sistema respiratorio: C_{rs} y la R_{rs} . La técnica más utilizada es la de “Oclusión única teleinspiratoria”.

- Técnica de “oclusión única teleinspiratoria”. Esta técnica, que mide la distensibilidad y la resistencia del sistema respiratorio, se apoya en el reflejo que tienen los lactantes, reflejo de Hering-Breuer ¹⁴, por el cuál se produce una relajación de la musculatura respiratoria cuando se realizan maniobras de oclusión en la vía aérea que generan un aumento de presión en el interior de la misma.

La realización de la técnica requiere la sedación del niño para evitar su llanto y oposición activa a la prueba ¹⁵⁰ y su desarrollo es el siguiente: una vez dormido el lactante, tras la sedación, se inicia el registro de la presión, el flujo y el volumen de sus ciclos respiratorios realizados a volumen corriente. Para ello se acopla un neumotacógrafo conectado a una mascarilla facial, que recoge el aire espirado por la nariz y la boca, de las respiraciones que de forma espontanea realiza el niño. A través de un sensor de presión se recogen las presiones en la boca. Al final de una

inspiración, antes de iniciarse la espiración siguiente, se impide la espiración a través de un ocluser, de lo que resulta que el flujo se interrumpe y se produce un aumento de la presión del sistema respiratorio, que llega a alcanzar una presión meseta.

Por este aumento de presión se pone en marcha el reflejo de Hering-Breuer por el cual se produce una relajación de los músculos respiratorios, y un equilibrio de presiones en toda la vía aérea, por lo que la presión que se obtiene en la boca, durante la oclusión, es la misma en todos los puntos de la vía aérea. Una vez alcanzada la presión máxima y constante, presión meseta, se libera la oclusión, produciéndose una espiración con un cambio de volumen, sólo debido a la presión meseta que actúa como presión motriz, suponiéndose por el reflejo de Boering-Breuer, que los músculos respiratorios siguen relajados.

De esta manera se puede calcular la distensibilidad y la resistencia con las diferencias de presiones y los cambios de volumen. Esta técnica asume que, la presión después de la oclusión de la vía aérea refleja la distensibilidad del sistema respiratorio. En la figura 4 se recoge un registro de la presión, flujo y volumen obtenido por esta técnica de oclusión única teleinspiratoria.

Para el cálculo de la distensibilidad total del sistema respiratorio se utilizan los datos obtenidos antes de la liberación de la obstrucción: dividiendo el volumen corriente medio por la presión meset.

Para la medida de la resistencia se utilizan los valores de la presión meseta, y se divide por el flujo obtenido de la extrapolación a volumen cero.

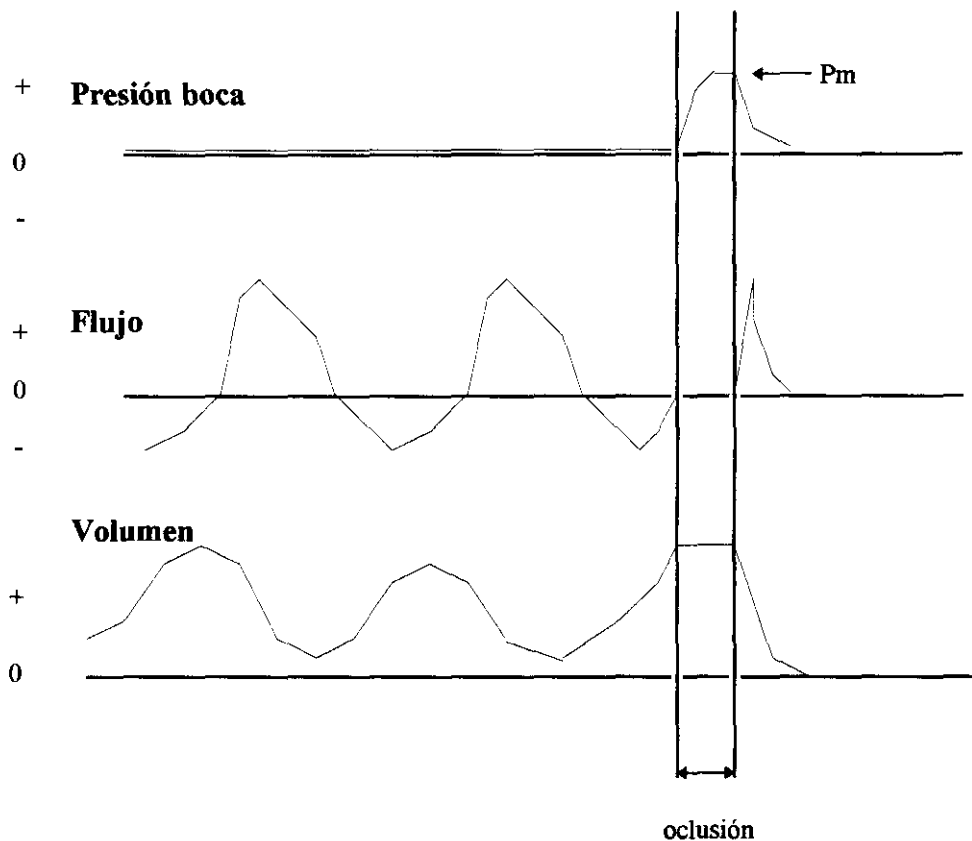


Figura 4. Esquema de las curvas de presión, flujo y volumen obtenidas con la técnica de “oclusión única teleinspiratoria”. Las líneas horizontales marcan el tiempo en el que se desarrollan los ciclos respiratorios. Se realizan dos ciclos respiratorios completos y al finalizar la inspiración del tercer ciclo se produce la oclusión, marcada por las líneas verticales. Con esta técnica se calculan la distensibilidad y la resistencia total del sistema respiratorio. P_m corresponde a la presión meseta.

Para el desarrollo de ésta técnica, en la práctica, se precisa del registro de presiones en la boca, del flujo espiratorio y de la medida de los cambios de volumen pulmonar. Los dispositivos necesarios para su realización son los siguientes: 1. Neumotacógrafo. 2. Transductor de presión: dispositivo que posee un sensor por el que se miden las presiones en la boca. 3. Sistema informático: que recoge y analiza el volumen, presión y flujo, calculando la distensibilidad y la resistencia mediante fórmulas matemáticas.

b) Valores de referencia. Los valores de la distensibilidad y resistencia están relacionados con el tamaño y la edad del niño. En la práctica se utilizan datos antropométricos como el peso y la talla y también la edad. Son escasos los estudios realizados en niños sanos para obtener valores normales de distensibilidad y resistencia pulmonar tanto dinámica como estática^{13, 165}. Para lactantes y neonatos (a término o prematuros), los valores de la distensibilidad pulmonar estática: C_{rs} obtenida por técnica de oclusión única se sitúan entre 1.0 y 1.6 ml x Kg⁻¹ x cm de H₂O⁻¹. En cuanto a los valores de la resistencia estática, obtenida por la misma técnica de oclusión única, los valores que se han publicado corresponden a $R_{rs} = 0.047-0.036 \times \text{Peso}^{-3}$ y vienen expresados en cmH₂O x L⁻¹ x sg⁻¹.

II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

Los objetivos de esta Tesis son:

- I. Evaluar las características de los lactantes en la fase aguda de la bronquiolitis en relación con la clínica, las pruebas de función pulmonar tanto basales como después de la aplicación del broncodilatador y los niveles de ECP.
- II. Determinar si los valores de la ECP, puntuación clínica y función pulmonar, obtenidos en el momento agudo de la bronquiolitis predicen el curso evolutivo posterior de estos niños.
- III. Observar si existe correlación entre la clínica, la función pulmonar y la ECP durante el periodo comprendido en el año posterior a la bronquiolitis.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III. 1. SELECCIÓN DE PACIENTES

El grupo de estudio de la presente Tesis, estuvo compuesto por lactantes, previamente sanos, que fueron ingresados en el Hospital Doce de Octubre de Madrid, con diagnóstico de bronquiolitis aguda moderada-severa. Se consideró gravedad moderada-severa a toda bronquiolitis que precisó ingreso hospitalario, por signos de distrés respiratorio, con tos o vómitos que dificultasen la alimentación y regular o mal estado general. Los lactantes ingresaron durante la epidemia de virus respiratorio sincitial (VRS), durante el periodo de tiempo comprendido entre Noviembre de 1993 a Febrero de 1994. El diagnóstico de bronquiolitis aguda se dio a aquellos niños con infección del tracto respiratorio inferior de origen probablemente vírico, dificultad respiratoria y respiración sibilante.

III. 1. 1. Criterios de inclusión

1. Diagnóstico de bronquiolitis aguda moderada-severa que precisó ingreso hospitalario.
2. Edad comprendida entre 1 y 12 meses.
3. Consentimiento por parte de los padres para realizar las pruebas de función pulmonar.

III. 1. 2. Criterios de exclusión

1. Presencia de patología respiratoria pulmonar previa.
2. Antecedente de patología cardíaca previa.
3. Antecedente de prematuridad (edad gestacional menor de 37 semanas).
4. Bronquiolitis severa que requirió ingreso en UCIP y/o ventilación asistida.

De la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión del estudio reclutamos 35 lactantes en fase aguda de bronquiolitis, de los que 24 completaron, en una segunda fase, el seguimiento durante un año.

III. 1. 3. Características demográficas del grupo

Nuestro grupo estuvo compuesto por los 35 lactantes que fueron reclutados por seguir los criterios de inclusión en el estudio; de ellos, 22 varones, con edad media de 137 días (41-332). En 31 de los casos (88%) el VRS fue el agente etiológico. En 29 casos se detectó por inmunofluorescencia directa y en 2 por cultivo. Los resultados se encuentran en la tabla I.

n° de niños	edad (días)	peso (Kg)	talla (cm)	días ingreso
35 (62 % niños)	137±87 [41-332]	6,4±1,6 [4-10]	61,6±6 [52-78]	4,15±1,90 [1-8]

Tabla I. Características del grupo: Expresados en valores de la media \pm desviación estándar, [rango]

II. 2. ESTUDIOS REALIZADOS

III. 2. 1. Exploración clínica.

1. Puntuación clínica:

Se realizó, durante su ingreso en el hospital, una evaluación clínica que consistió en la aplicación de una puntuación clínica para distrés respiratorio: RDAI (Respiratory Distress Assessment Instrument) diseñado por Lowell ¹⁵⁹ basado en dos variables:

- a) retracciones de la pared torácica.
- b) sibilancias a la auscultación pulmonar.

Esta puntuación, adaptada con la frecuencia respiratoria, es la utilizada en la Sección de Neumología Infantil para lactantes con bronquiolitis.

La puntuación clínica se aplicó dos veces: en condiciones basales, sin tratamiento previo con broncodilatador, y 20 minutos después de haber recibido un aerosol con salbutamol.

La administración del salbutamol se hizo en una sola dosis, o bien nebulizado o en aerosol presurizado, que son las dos formas más frecuentes de utilización del salbutamol en lactantes.

La puntuación clínica se encuentra en la tabla nº II.

PUNTUACIÓN	0	1	2	3	4	Máxima
SIBILANCIAS						
Expiración	No	Final	1/2	3/4	Toda	4
Inspiración	No	Parte	Toda			2
Localización	No	≤2/4 partes	≥3/4 partes			2
RETRACCIÓN						
Supraclavicular	No		Moderada	Marcada		3
Intercostal	No		Moderada	Marcada		3
Subcostal	No		Moderada	Marcada		3
FR	<30	31-45	46-60	>60		3
TOTAL	0					20

Tabla II. Puntuación de distrés respiratorio RDAI de Lowell modificada con la frecuencia respiratoria. En el apartado de localización las partes se refieren a hemitórax derecho, izquierdo, plano anterior o posterior. FR: frecuencia respiratoria.

Cuando el broncodilatador se administró nebulizado, se empleó Ventolin solución para nebulizar 5 mg/ ml (Glaxo^R), a dosis de 0.15 mg/kg (0.03 ml/kg) a la que se añadieron 2 ml de suero fisiológico, se utilizó un aerosol tipo Optineb^R. Este aerosol utilizó como fuente de gas el oxígeno. La principal ventaja de utilizar este tipo de aerosol es que nebuliza exclusivamente con cada inspiración. Tiene la posibilidad de regular la presión inspiratoria de nebulización para cada edad, con un umbral más bajo de liberación de la sustancia a nebulizar para lactantes y un contador de inhalaciones.

Para el lactante cada inspiración libera 8 mcg (Manual de uso Optineb: Vital Aire^R). Al inspirar el lactante se “dispara” la nebulización, con este sistema se consigue inhalar la mayor parte del medicamento liberado, a diferencia de aquellos de nebulización continua en los que se pierde una gran parte de la medicación que no inhala el paciente.

En otro grupo de lactantes se utilizó salbutamol presurizado (Ventolin inhalador Glaxo^R) 0.2 mg en cada lactante con una cámara espaciadora infantil con mascarilla facial llamada Aerochamber^R. En ambos casos se comprobó un aumento de la frecuencia cardíaca tras la inhalación del salbutamol.

Durante el intervalo comprendido entre la administración del salbutamol y la siguiente determinación de la puntuación clínica, los lactantes se mantuvieron respirando aire ambiente.

Las puntuaciones más elevadas significan un mayor deterioro respiratorio, y las más bajas una menor afectación, localizándose el rango de la puntuación entre 0 y 20. Se consideró mejoría clínica, después de la aplicación del salbutamol, siguiendo las recomendaciones del estudio diseñado por Lowell y cols.¹⁵⁹, a un descenso de la puntuación clínica RDAI mayor o igual a cuatro puntos.

En las siguientes revisiones, a los 4, 6 y 12 meses del ingreso por bronquiolitis, se realizó una exploración clínica, ya sin aplicar la puntuación clínica de la fase de bronquiolitis, para comprobar la ausencia de patología pulmonar antes de volver a realizar las pruebas de función pulmonar, evitando su realización en niños con presencia de patología broncopulmonar actual.

III. 2. 2. Medición de la saturación de oxígeno. Se empleó un pulsioxímetro de la marca Oxy Shuttle-Criticon, que registró la frecuencia cardíaca y la saturación de O₂ por medio de pulsioximetría. La determinación se realizó después de al menos 20 minutos respirando aire ambiente. La no invasividad de esta técnica facilitó enormemente su aplicación ¹⁶⁰.

III. 2. 3. Determinación de niveles de “Proteína Catiónica del Eosinófilo” en suero: s-ECP

Se obtuvieron 2 ml de sangre, utilizando una parte de la muestra de extracción de sangre venosa, que de forma rutinaria se lleva a cabo para hemograma y gases sanguíneos a la totalidad de los niños ingresados por bronquiolitis. Después de la extracción se mantuvo almacenada a temperatura ambiente durante 90 minutos, éste tiempo es necesario para la liberación de la ECP del interior de los eosinófilos activados. Transcurridos 90 minutos, se procedió a centrifugar la muestra durante 10 minutos a 2500 rpm, utilizando una centrífuga Centromix P-Selecta®. Se recogió la cantidad de 500 µl del sobrenadante y se pipeteó en un tubo de plástico con tapón para ser congelado y conservado a -20°C, en el caso en que no se realizara inmediatamente la determinación de la ECP.

La medida de ECP en suero se realizó por medio de un test cuantitativo con una técnica de radioinmunoanálisis (Pharmacia AB, Uppsala, Sweden).

El procedimiento del test se basa en la cuantificación de anticuerpos por el sistema FEIA (Fluor Espectro Inmuno Análisis): método de inmunoanálisis que utiliza el flúor como marcador.

La técnica de este test es la siguiente: en una primera fase se vierte el contenido del suero del paciente en unos módulos unitarios tipo cazoleta, que poseen en su interior un material de celulosa impregnado de un reactivo con el que entra en contacto el suero problema. El reactivo es una sustancia compuesta por una molécula anti-ECP monoclonal, que forma un complejo: ECP-antiECP. En la siguiente fase, este complejo se pone en contacto con un substrato fluorado, que da lugar a un producto fluorescente. Esta fluorescencia puede cuantificarse, dando, de forma indirecta, la concentración de ECP sérica en mcg/l. Para la realización del procedimiento se cuenta con un sistema automatizado, que facilita los resultados, con una mínima manipulación por parte del técnico, haciéndose de esta manera más difícil el error humano.

El rango de valores de ECP disponible con el actual sistema de determinación oscila entre 2 y 200 mcg/L, considerándose cifras normales las comprendidas entre 2 y 20 mcg/L, que son los valores de referencia del laboratorio que comercializa el reactivo

161

III. 2. 4. Estudio del VRS en secreciones naso-faríngeas

Con el fin de identificar los antígenos virales de VRS para el diagnóstico etiológico, se tomaron muestras de las secreciones nasofaríngeas en cada uno de los lactantes que participó en el estudio. Para su determinación se utilizó el test rápido de detección de antígeno viral, por técnica de inmunofluorescencia directa. En aquellos que resultó negativo se realizó además cultivo para aislamiento del virus. Sólo se reflejaron los resultados de VRS, no de otros virus.

III. 2. 5. Pruebas de función pulmonar

a) *Aparataje*. Las pruebas se realizaron sirviéndose de un sistema informatizado complejo con capacidad para la determinación de numerosos parámetros como la frecuencia respiratoria, el volumen tidal, la ventilación por minuto, los tiempos de inspiración y espiración, la fracción de T_i / tiempo total, el tiempo de pico espiratorio e inspiratorio.

a) Flujo máximo a nivel de FRC: $V_{\max FRC}$.

b) Distensibilidad total del sistema respiratorio: C_{rs} .

c) Resistencia total del sistema respiratorio: R_{rs} .

Se utilizó para ello un sistema informatizado llamado PEDS: Pulmonary Evaluation Diagnostic System, elaborado por Medical Associates Inc., Hatfield, Pennsylvania, USA. El sistema se compone de un ordenador central con un microprocesador Intel 80386 que recibe, a través de los correspondientes puertos, los registros enviados desde los distintos periféricos, entre los que se encuentran: el neumotacógrafo, que registra el flujo y el transductor de presión. El neumotacógrafo y el medidor de presión envían sus señales de presión y flujo al procesador y muestra a través de un monitor las curvas flujo/volumen en tiempo real. El PEDS es capaz de almacenar cada registro realizado, para ser estudiado más tarde y obtener la impresión gráfica de dicho estudio a través de una impresora, con la que también cuenta el equipo.

Posee un programa para neonatos de $< 2000g$, llamado NEO, otro para lactantes de entre 2 y 15 Kg de peso, llamado PEDS, que es el que se utilizó en el presente estudio y otro para niños con pesos de más de 15 Kg, denominado CHILD. Cuenta

con un conjunto de mandos que se activan desde el teclado del ordenador para la realización de diferentes funciones. Figura 5.



Figura 5. Unidad central del sistema informático PEDS: Pulmonary Evaluation Diagnostic System cuya función es calcular los valores reales y los previstos para cada paciente de los diferentes parámetros de la función pulmonar. Monitor que muestra las curvas en tiempo real.

Los instrumentos se calibraron periódicamente a través de medidores de flujo y presión, para establecer el cero y el rango sobre el cual se van a mover los valores.

A la unidad central se acoplan los siguientes componentes:

1. Neumotacógrafo tipo Fleisch 0, pediátrico, que mide el flujo, con rango entre ± 24 L/min. Para su mantenimiento se realizó una desinfección periódica sumergiéndolo en una solución de lejía al 1% con agua durante 2-3 horas. Figura 6.
2. Reservorio de aire que se une a la chaquetilla neumática por medio de un tubo corrugado y es accionado para su apertura a través del teclado que va unido a la unidad central. El suministro de aire, lo obtiene de una bala de aire comprimido con la que se conecta. La presión con la que sale el aire desde el reservorio con dirección a la chaquetilla a través del tubo, se regula previamente entre 10 a 100 cmH₂O.
3. Mascarilla facial tipo Vital Signs, de látex, muy similar a la que se acopla a los respiradores manuales tipo ambú.
4. Transductor de presión tipo Validyne, con un puerto para la conexión con el correspondiente sensor de presión. La determinación de la presión es tomada en la boca a través de un aplicador que se interpone entre el neumotacógrafo y la mascarilla facial. Este transductor tiene un rango de ± 50 cmH₂O. Figura 6.
5. Chaquetillas neumáticas: son chalecos confeccionados en plástico, que fueron facilitadas por la misma casa comercial del PEDS. Poseen un cierre de velcro para su ajuste al tórax y abdomen de cada niño, tienen una forma rectangular, y poseen en su interior una cámara que se llena de aire del reservorio, a la presión prefijada,

en la maniobra de compresión. Este llenado se realiza gracias a la conexión del reservorio con las chaquetillas a través de un tubo de plástico corrugado. Se dispone de varias tallas para los distintos tamaños de lactantes o neonatos. Figura 7.

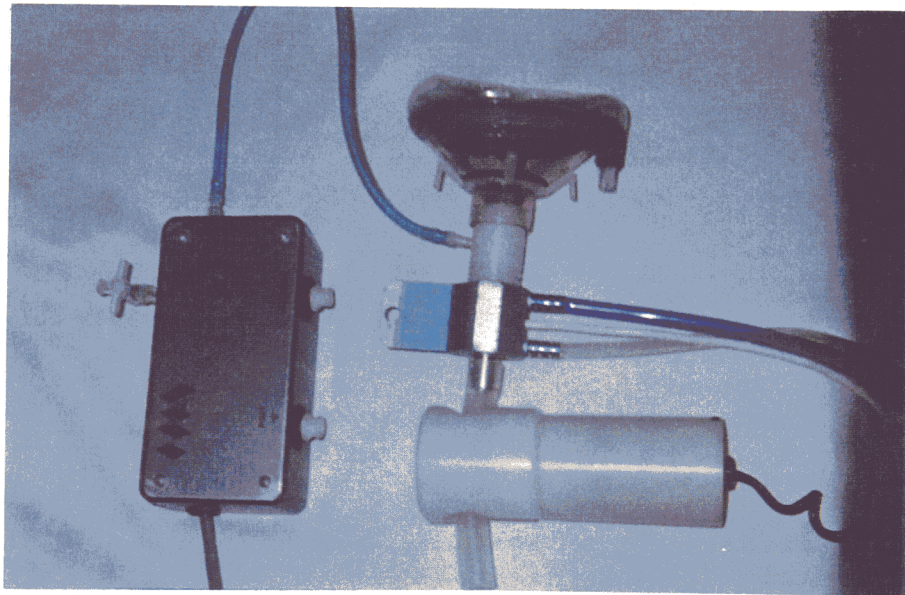


Figura 6-a. Neumotacógrafo. Transductor de presión. Mascarilla facial y ocluser. El neumotacógrafo (pieza azul metálica situada en el centro de la imagen) se encuentra unido, por medio de un dispositivo cilíndrico blanco, a la mascarilla facial. A través de una conexión (tubo de plástico verde) se acopla el transductor de presión. Distal al neumotacógrafo se sitúa el ocluser para la realización de la maniobra de "oclusión única teleinspiratoria" que determina las propiedades mecánicas de distensibilidad y resistencia total del sistema respiratorio.

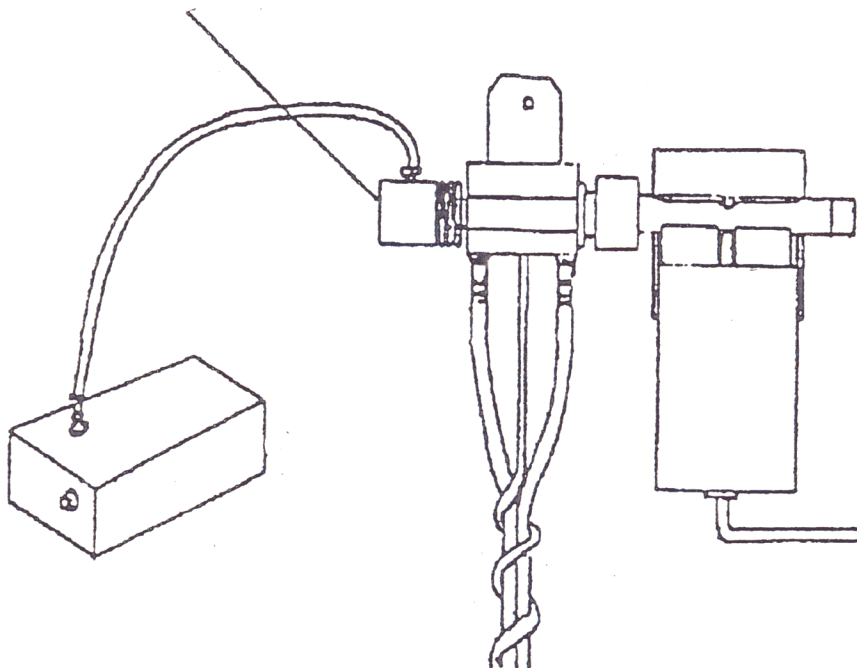


Figura 6-b. Esquema de transductor de presión, neumotacógrafo y ocluser de izquierda a derecha, con las distintas conexiones entre ellos y salidas con dirección a la unidad central.



Figura 7. Chaquetillas de diferentes tamaños para la realización de la maniobra de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” en lactantes. Con ella determinamos el flujo espiratorio: V_{maxFRC} . Podemos observar la pieza cilíndrica de plástico situada en su centro para ser conectada con el tubo corrugado procedente del reservorio de aire para el llenado de la chaquetilla a presión, en cm de H_2O , que es predeterminada por el explorador.

b) Sedación con hidrato de cloral. Para llevar a cabo las maniobras de las pruebas de función pulmonar siempre es necesaria la sedación de los lactantes. Se administró una solución de hidrato de cloral a concentración de 100 mg/ml diluida en suero glucosado al 5%. Se administró por vía oral o rectal a dosis de 100 mg/Kg, dando una segunda dosis de 50 mg/kg si se eliminó antes de 15-20 minutos de su administración inicial. Una vez inducida la sedación se iniciaron las siguientes maniobras de función pulmonar.

c) Realización de las pruebas de función pulmonar. Para conseguir unos resultados satisfactorios en la realización de las pruebas de función pulmonar de los lactantes, es necesario contar, además de con los medios técnicos descritos, con un ambiente lo más tranquilo posible en la sala en la que se realiza el procedimiento: que debe tener una temperatura adecuada y un ambiente silencioso, con los mínimos sobresaltos posibles para el lactante.

Las propiedades de la función respiratoria estudiadas fueron: 1º La función espiratoria con técnica de “espiración parcial forzada con chaquetilla neumática”. 2º: La distensibilidad y resistencia del sistema respiratorio mediante técnica de “oclusión única teleinspiratoria”. Ambas pruebas se realizaron dos veces: la primera inmediatamente después de la determinación de la puntuación clínica en condiciones basales y la segunda, 20 minutos después de la administración de salbutamol.

1. Técnica de “espiración parcial forzada con chaquetilla neumática”. Para la realización de ésta prueba se colocó al lactante, ya sedado, en decúbito supino y se ciñó una chaquetilla neumática alrededor del tórax y abdomen, que por la parte

superior cubría hasta por encima del esternón, dejando la suficiente holgura para que no se impidieran los movimientos respiratorios normales.

Una vez comprobada la situación de la vía aérea alta: posición del cuello y existencia o no de secreciones respiratorias, nasales u orofaríngeas, se conectó la mascarilla facial con el neumotacógrafo y se aplicó a la cara del niño, incluyendo nariz y boca. Se registraron los flujos inspiratorio y espiratorio, por medio de las curva flujo/volumen, que se fueron visualizadas en la pantalla del PEDS. La configuración de éstas curvas flujo/volumen fué la clásica de asa en un sistema de coordenadas con los valores de flujo en el eje de ordenadas y de volumen en el de abscisas.

Después de haber realizado algunos ciclos respiratorios completos, regulares, se activó a través del teclado la orden de llenado rápido de aire de la chaquetilla, durante 1 sg. La presión aplicada comenzó siendo de 35 o 40 cmH₂O, y se fué subiendo progresivamente en cada maniobra 10 cmH₂O, hasta un máximo de 100 cmH₂O, realizando una maniobra al menos con cada una de éstas presiones.

En la figura 8 podemos ver a un lactante sedado en el que se está realizando el estudio de función pulmonar aplicando dicha técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”.

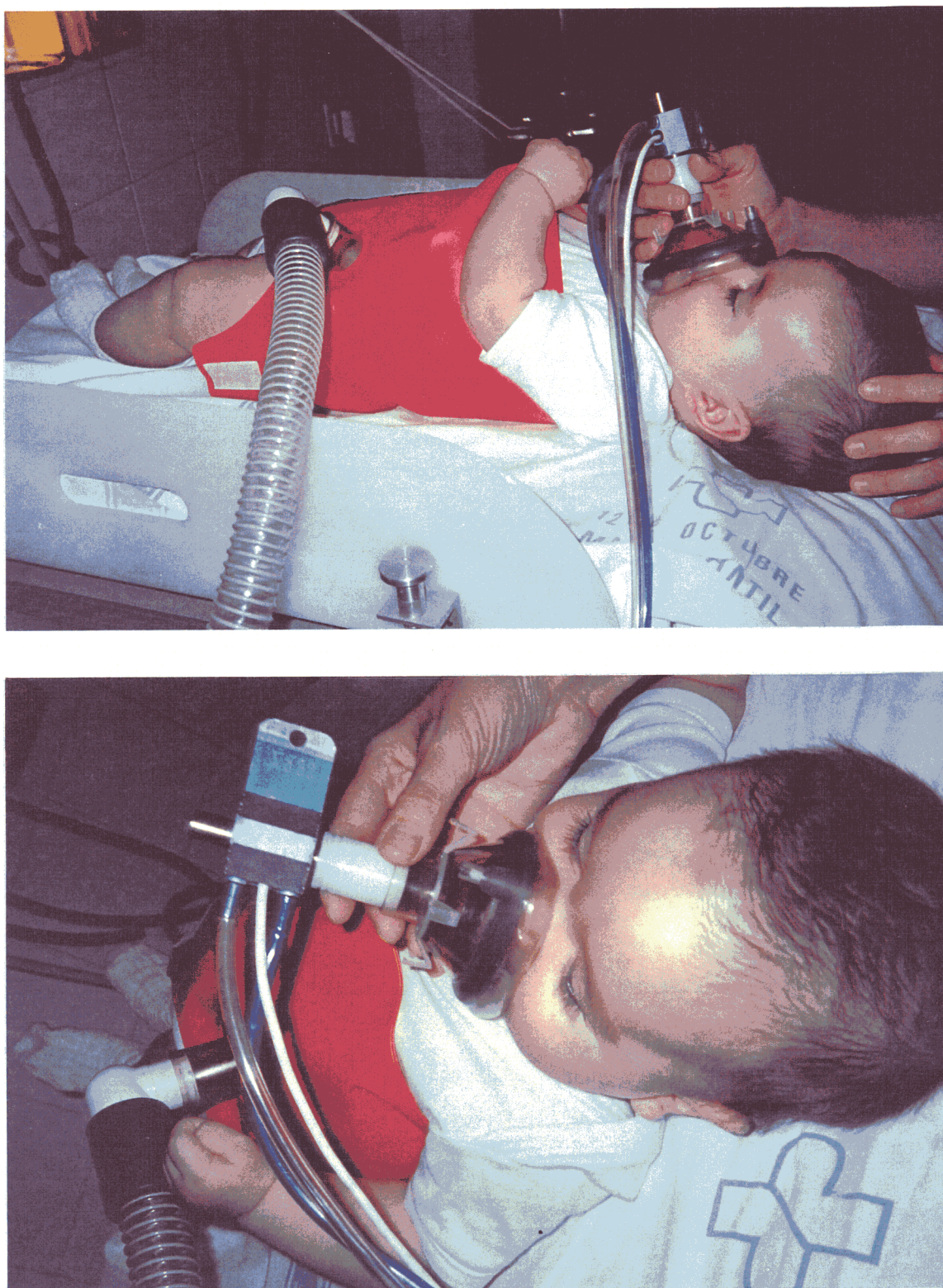


Figura 8. Lactante sedado durante la realización de la maniobra de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”. En la fotografía superior se puede observar la chaquetilla entorno al tórax-abdomen conectada por medio del tubo corrugado con el reservorio de aire y el neumotacógrafo unido por medio de la mascarilla a la cara del niño. En la fotografía inferior detalle del neumotacógrafo y la mascarilla.

El sistema informático determinó el valor del flujo máximo a nivel de la capacidad funcional residual (FRC) y analizó los datos, comprobando las condiciones para determinar si la curva podía ser válida o no. Primero: que el pico máximo de flujo espiratorio se obtenga lo más cercano al comienzo de la espiración y alcance el final de la espiración a un volumen pulmonar menor que el FRC. Segundo: que el comienzo de la espiración forzada sea lo más cercano al comienzo de la espiración a volumen tidal. Tercero: que no haya una interrupción del flujo espiratorio por un cierre reflejo de las cuerdas vocales. El valor de la FRC se calculó a partir de tres respiraciones regulares previas a volumen corriente.

Se tomó como resultado de V_{maxFRC} el correspondiente al mejor valor obtenido entre todas las curvas válidas. Pero dado que el valor absoluto aporta escasa información acerca de la situación funcional del lactante, se utilizó el % del valor de V_{maxFRC} previsto para su talla. Los valores de referencia utilizados fueron los obtenidos del estudio realizado por Martínez Gimeno A.¹⁵⁷. Es el único estudio de V_{maxFRC} realizado con lactantes normales en nuestro país. Para el cálculo de V_{maxFRC} se aplicó la fórmula de $6,8 T - 251,6$ (talla en cm, V_{maxFRC} en ml/s). Para obtener el valor normalizado: Z-Puntuación, se utilizó la diferencia entre el flujo obtenido en el lactante y el flujo previsto, dividido por la desviación estándar.

Después se administró una sola dosis de salbutamol inhalado y pasados 20 minutos, en los que el lactante se encontraba respirando aire ambiente, se volvió a repetir la maniobra de la misma forma que la que se ha descrito en condiciones basales.

2. Técnica de oclusión única teleinspiratoria. Con ésta prueba se miden la distensibilidad y la resistencia del sistema respiratorio. Los elementos necesarios para la realización de ésta técnica son: el neumotacógrafo para la medida de los flujos respiratorios, el transductor de presión y el ocluser.

El desarrollo de la maniobra, fue el siguiente: una vez inducido el sueño, se colocó al niño en decúbito supino, con el cuello ligeramente extendido, aplicándole la mascarilla facial antes descrita, conectándose la mascarilla al neumotacógrafo. Para la medida de la presión en la boca se colocó un transductor de presión cercano a la mascarilla. Se observaron, en primer lugar, los ciclos respiratorios a volumen corriente, para valorar la presencia de limitaciones del flujo respiratorio, debido a obstrucción de la vía aérea superior. Se modificó en el caso de ser necesario la posición del cuello, para evitar la postura de hiperextensión o flexión y en los casos en los que observó que había signos de secreciones respiratorias de vías altas, se aspiraron para evitar que la lectura de los flujos respiratorios estuviera alterada por obstrucción a nivel de la vía aérea superior. Se procuró que la boca se mantuviera abierta durante toda la maniobra y se permitió que el niño respirara de forma espontánea.

Se fueron registrando en el monitor de la unidad central a tiempo real las curvas de flujo, volumen y presión, visualizándose tres curvas paralelas e independientes, cuyo eje horizontal corresponde al tiempo. Después de realizadas varias respiraciones, en el momento inmediatamente anterior al inicio de una espiración, se activó el ocluser para provocar una interrupción del flujo espiratorio, consiguiéndose así un aumento de presión en la boca, dando lugar a una presión meseta, un flujo igual a cero y un volumen meseta que no varía. Esta oclusión se mantuvo aproximadamente un segundo. El análisis de las curvas fue realizado también de manera automática por el sistema informático del PEDS, obteniéndose la distensibilidad y la resistencia total del sistema respiratorio.

La distensibilidad se calcula por medio de la siguiente fórmula: $C_{sr} = V_t / P_m$ siendo el V_t el volumen corriente medio de las tres ciclos respiratorios previos a la oclusión y P_m la presión motriz.

El cálculo de la resistencia total del sistema respiratorio, se obtiene de la fórmula $R_{sr} = P_m / F$, donde P_m es la presión motriz y V el flujo utilizado es el del valor extrapolado a volumen espirado cero.

Después de cada maniobra de oclusión, el programa, siguiendo unos criterios previamente establecidos de validez de las curvas, analizó cada una de ellas, seleccionando las que cumplieron las condiciones. Se repitieron las maniobras hasta obtener un mínimo de tres válidas y se tomó como resultado, tanto de la distensibilidad como de la resistencia, la media de ellas, cálculo que de forma automática realiza el programa informático.

Los valores de normalidad para la distensibilidad del sistema respiratorio se tomaron del estudio de función pulmonar para la valoración de las propiedades mecánicas del pulmón realizado con la "técnica de oclusión única teleinspiratoria" en lactantes normales. Este estudio es el citado anteriormente ¹⁶², sus valores de normalidad fueron $C_{sr} = 1,03 \pm 0,26 \text{ ml/cmH}_2\text{O Kg}$.

Para los valores de normalidad de la resistencia se hizo referencia a los valores obtenidos en el mismo estudio citado para la distensibilidad ¹⁶². $R_{sr} = 55,9 \pm 14,6 \text{ l/cmH}_2\text{O s}$, como valor absoluto sin relación a la talla.

Esta prueba se realizó exclusivamente en condiciones basales y no fue repetida tras el broncodilatador.

3. 2. 6. Fases del trabajo

El presente trabajo se estructuró en dos partes:

1ª. Recogida de los datos de la muestra: lactantes en la fase aguda de la bronquiolitis.

2ª. Revisiones durante el primer año después del episodio de bronquiolitis. En esta segunda fase se realizaron, a los 4, 6 y 12 meses de la bronquiolitis, las mismas pruebas de función pulmonar y análisis de ECP en suero, que en el episodio agudo de bronquiolitis. Junto a estas pruebas se recogió la anamnesis de la evolución clínica, desde el punto de vista de los síntomas respiratorios de sibilancias y los datos antropométricos de cada lactante.

3. 2. 7. Método estadístico

a) Recursos informáticos. Los datos recogidos se procesaron en la base de datos estadística del programa informático denominado RSIGMA BABEL (1990 Horus Hardware), que se utilizó como sistema de cálculo numérico.

b) Estadística descriptiva. Para cada una de las variables cuantitativas evaluadas se obtuvieron los siguientes parámetros descriptivos:

- Media
- Desviación estándar
- Rango
- Tamaño de la muestra

c) Comparación de variables. Para la comparación de variables cuantitativas se utilizó la prueba de t de Student para muestras independientes. Esta prueba se aplicó siempre que las muestras fueron grandes ($n > 30$) y en caso contrario se comprobó la distribución normal de la variable mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. En caso de distribuciones no normales en muestras pequeñas previó la utilización de pruebas no paramétricas (Mann-Whitney).

Para la comparación de varias muestras de variables cuantitativas se utilizó el análisis de la variancia para un factor. Cuando esta comparación mostró una diferencia estadísticamente significativa se utilizó la prueba de Newman-Keuls para la comparación múltiple entre las parejas de muestras.

La relación entre variables cuantitativas se realizó con regresión lineal. Cuando tuvo sentido desde el punto de vista clínico esta relación también se estudió distribuyendo la muestra en dos o más grupos según ciertos valores críticos de la variable independiente y comparando la variable dependiente de estos grupos.

En todos los casos las diferencias y las correlaciones se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor p fué menor o igual a 0,05. En el caso de las comparaciones con la prueba de la t de Student también se calcularon los intervalos de confianza para la diferencia, que dan una idea más cabal de la magnitud de la diferencia encontrada.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

IV. 1. RESULTADOS DEL GRUPO DE LACTANTES EN EL EPISODIO AGUDO DE BRONQUIOLITIS

Los valores obtenidos durante la fase aguda de bronquiolitis en los 35 lactantes del grupo de estudio que componen la presente tesis doctoral se recogen a continuación.

IV. 1. 1. Puntuación clínica. Saturación de O₂. Pruebas de función pulmonar basales: V_{maxFRC} , distensibilidad y resistencia. ECP. VRS en la fase aguda de la bronquiolitis

Durante el episodio agudo de bronquiolitis los valores de la puntuación clínica, saturación de O₂, pruebas de función pulmonar y niveles séricos de ECP de los 35 lactantes que formaron parte del presente trabajo se muestran en la Tabla III. Los lactantes VRS + fueron 31 (88 %).

Puntuación clínica	Saturación O ₂ %	V _{maxFRC} % previsto	V _{maxFRC} Z-Score	C _{rs} ml/cmH ₂ O.kg.	R _{rs} cmH ₂ O/L/s	ECP mcg/l
6,4±3,74 [1-14]	88,38±4,6 [80-98]	30,56±15 [7-72,7]	-2,05±0,6 [-3,56-0,73]	0,89±0,42 [0,30-2,15]	50,78±19 [23-102,54]	20,14±16 [2-57,1]

Tabla III. Valores basales en los lactantes con bronquiolitis. Puntuación clínica. Saturación de O₂. Pruebas de función pulmonar: flujo máximo a volumen de la capacidad funcional residual obtenido por técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” (V_{maxFRC}% y V_{maxFRC} Z-Score), distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs}) y resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs}) por técnica de “oclusión única teleinspiratoria”. ECP. Se expresan como media ± desviación estándar y [rango].

Los valores obtenidos en los lactantes con bronquiolitis, reflejan en primer lugar un deterioro tanto clínico: puntuación clínica y saturación de oxígeno, como funcionales: pruebas de función pulmonar: flujos espiratorios, V_{maxFRC}, distensibilidad C_{rs} y resistencia R_{rs}.

Los valores de la función pulmonar V_{maxFRC}, % de los valores previstos, obtenidos con la prueba de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”, están claramente disminuidos, ningún lactante consiguió alcanzar el 100% del valor previsto, pero al ser una prueba funcional se pueden admitir como normales valores del 60% de su valor previsto. Tan sólo un lactante tuvo valores de V_{maxFRC}, % previsto, mayores de 60%: 72,62% (1 VRS+) y menores de 60%, los 34 restantes (30 VRS+). La figura nº 9 muestra una gráfica real de la curva flujo-volumen V_{maxFRC} obtenida por la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” en el episodio agudo de bronquiolitis. En ella se observa como la porción descendente de la curva de expiración forzada es extremadamente cóncava, lo cual indica la importante obstrucción bronquial al flujo aéreo.

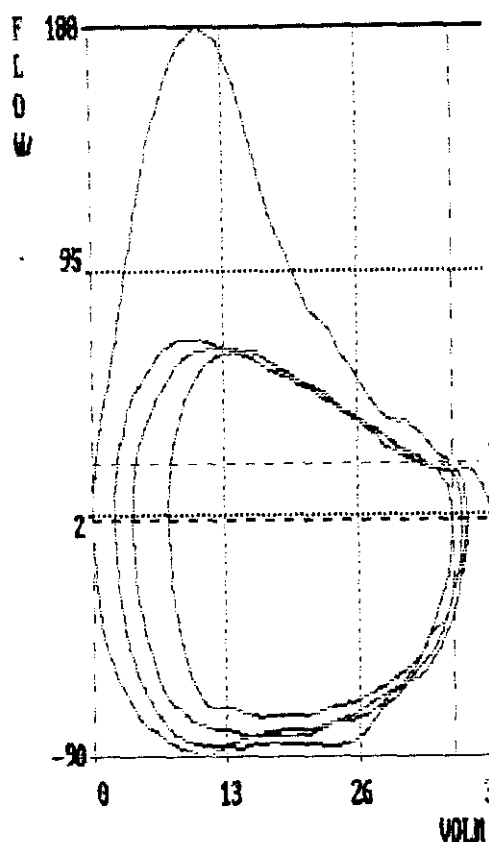


Figura 9. Gráfica real de la curva flujo-volumen $V_{\max FRC}$ obtenida con PEDS por la técnica de "expiración parcial forzada con chaquetilla neumática" en el episodio agudo de bronquiolitis

Los valores de la distensibilidad están alterados en la fase aguda de la bronquiolitis, comparándolos con los valores de normalidad referidos en el apartado de material y métodos ¹⁶². No se encuentra alteración en los valores encontrados para la resistencia en la fase aguda de la bronquiolitis ¹⁶². La figura n° 10 muestra el registro de la presión, flujo y volumen para la obtención de la distensibilidad y la resistencia, realizado con la maniobra de "oclusión única teleinspiratoria" de un lactante del estudio.

En cuanto a los valores de ECP en suero en el grupo de lactantes durante el episodio agudo de bronquiolitis, se encuentran dentro de límites normales ¹⁶¹.

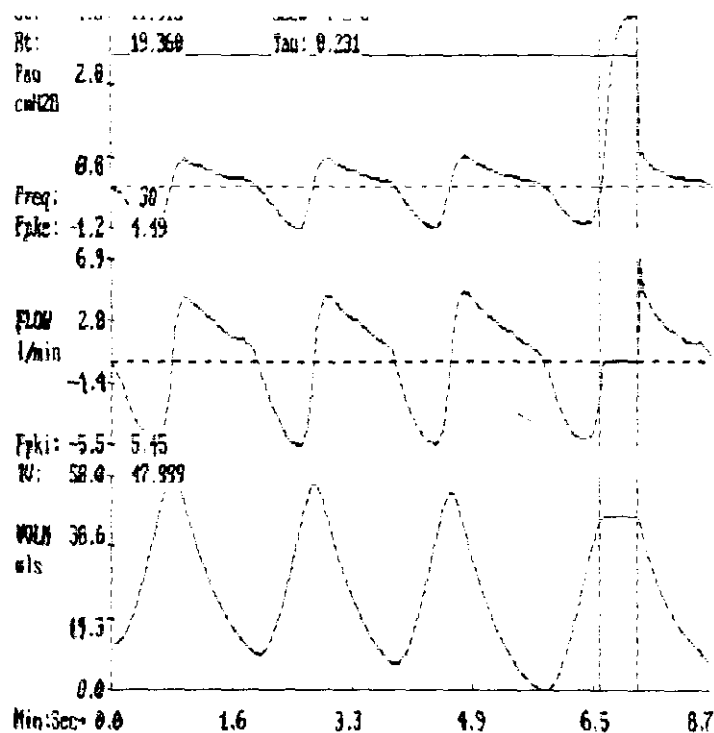


Figura 10. Registro de la presión, flujo y volumen para la obtención de la distensibilidad y la resistencia, realizado con PEDS, con la maniobra de "oclusión única teleinspiratoria", en la bronquiolitis.

IV. 1. 2. Respuesta al broncodilatador en la puntuación clínica, saturación de O_2 y pruebas de función pulmonar en la fase aguda de la bronquiolitis

Los valores obtenidos antes y después de la aplicación del salbutamol de la escala de puntuación clínica para el distrés respiratorio (RDAI), de la saturación de O_2 , y de $V_{\max FRC}$, se recogen en la tabla IV. Sólo fue posible realizarlo en 31 niños, porque después de la recogida de los datos basales algunos de ellos se despertaron de la sedación y no se pudieron determinar las mediciones después del broncodilatador. No se realizó la maniobra de oclusión tras el broncodilatador para obtener la distensibilidad y la resistencia.

Como puede observarse en la figura 11, la puntuación clínica empeora después de la aplicación del broncodilatador. En ella se muestran los valores medios antes y después del broncodilatador con la desviación estándar. El deterioro de la saturación de oxígeno se recoge en la figura 12.

En la figura 13 se puede observar el deterioro de los valores de $V_{\max\text{FRC}}$ después de la aplicación del broncodilatador con respecto a los valores basales. Este deterioro se refleja en una caída de los flujos espiratorios.

	PRE	POST	Dif	IC	p
Puntuación clínica n=33	6,4±3,7 [1-14]	8,6±3,2 [0-15]	+2,2±2,7 [-4+7]	1,2;+3,1	0,00004
Saturación O ₂ n=17	88,4±4,6 [80-98]	86,4±5 [76-95]	-1,7±4,4 [-12+5]	-0,57;+3,9	ns
% $V_{\max\text{FRC}}$ n=31	31,7±15 [7-73]	22,38±8,8 [9,5-45]	-21±28 [-74+39]	4,5;14	0,0003

Tabla IV. Valores antes y después de la aplicación del salbutamol, de la puntuación clínica. Saturación de O₂. Pruebas de función pulmonar: flujo máximo a volumen de la capacidad funcional residual ($V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto,) obtenido por técnica de “compresión torácica con chaquetilla neumática” y distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs}) y resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs}) por técnica de “oclusión única teleinspiratoria”. Se expresan como media ± desviación estándar y [rango]. n= nº de pacientes. IC: intervalo de confianza para la diferencia. p: grado de significación.

Observamos un empeoramiento posterior a la aplicación del broncodilatador tanto para la saturación de oxígeno, puntuación clínica, como para $V_{\max\text{FRC}}$ medido con la maniobra de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”. Se observó significación estadística en la puntuación clínica y el $V_{\max\text{FRC}}$

Variabilidad clínica con broncodilatador

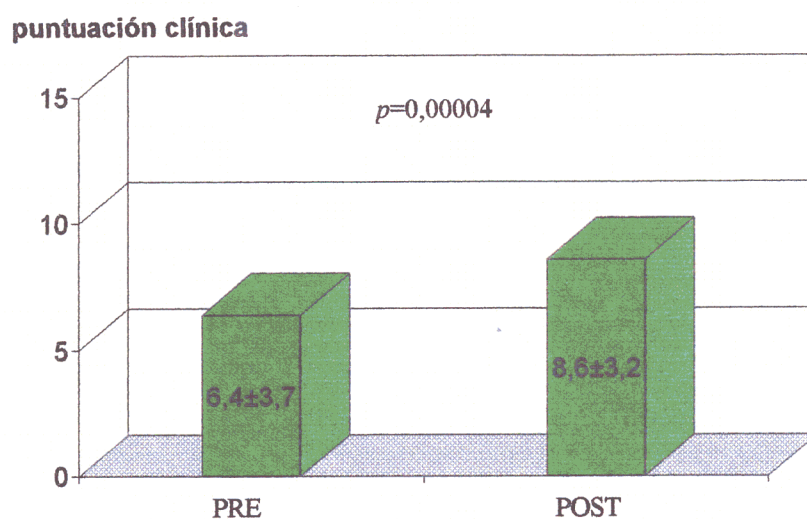


Figura 11. Valores antes y después de la aplicación del salbutamol en la puntuación clínica en el episodio agudo de bronquiolitis. p : grado de significación.

Cambio de la Sat de O₂ tras broncodilatador

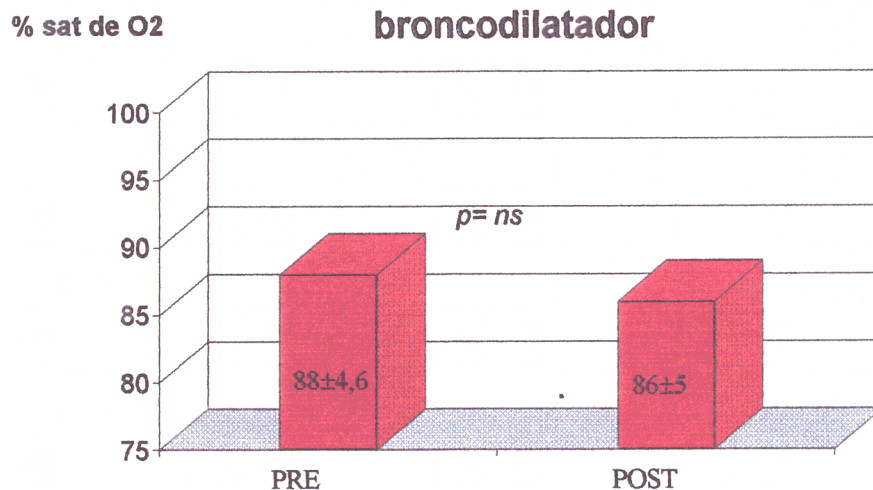


Figura 12. Valores antes y después de la aplicación del Salbutamol en la saturación de O₂ en el episodio agudo de bronquiolitis. p : grado de significación.

Variabilidad de % Vmax con broncodilatador

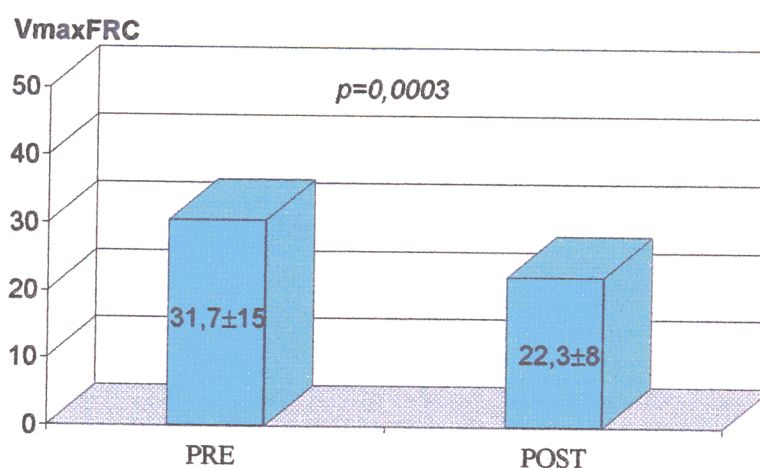


Figura 13. Valores antes y después de la aplicación del salbutamol en $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, en el episodio agudo de bronquiolitis. p : grado de significación.

En la tabla V se recogen los valores de $V_{\max\text{FRC}}$ basal de $>60\%$ y $<60\%$ y su variabilidad tras la aplicación de salbutamol.

$V_{\max\text{FRC}}$	PRE	POST
$>60\%$. n=1	72,62	-65
$<60\%$. n=34	29,33±13,7 [7,5;55]	-20±27,3 [-74,64;+39,2]

Tabla V. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal de $>60\%$ y $<60\%$ y su variabilidad tras la aplicación de salbutamol. Se expresan como media \pm desviación estándar. n: nº de pacientes.

En la tabla VI se recogen los valores de la variabilidad de $V_{\max FRC}$ tras salbutamol, en los lactantes que presentaron cambios de broncodilatación o broncoconstricción > del 30%.

Variabilidad $V_{\max FRC}$ después de salbutamol	
> 30% n=1 broncodilatación	39,23 (VRS=1)
< 30% n=11 broncoconstricción	48,8±12,4 (VRS=10)

Tabla VI. Variabilidad de $V_{\max FRC}$ después de la aplicación del salbutamol en los lactantes con cambios > o < de 30%. Se expresan como media ± desviación estándar. n: nº de pacientes. (VRS: nº de pacientes con VRS+).

Podemos observar que la tercera parte de los 30 lactantes que sufrieron deterioro, lo tuvieron clínicamente significativo, y tan sólo uno mejoró tras el broncodilatador.

La variabilidad de $V_{\max FRC}$ después de la aplicación del salbutamol según la forma de administración del broncodilatador, aerosol presurizado o nebulizado, se recoge en la tabla VII para valorar si hubo o no diferencia entre ambas formas.

$V_{\max FRC}$ % Variabilidad tras salbutamol	
presurizado n=20	-19±27
nebulizado n=11	-20±37
<i>p</i>	ns

Tabla VII. Variabilidad de $V_{\max FRC}$ después de la aplicación del salbutamol según los dos métodos de inhalación: pres: presurizado o neb: nebulizado. Se expresan como media ± desviación estándar. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación.

Observamos que no se encuentra ninguna diferencia entre la respuesta de $V_{\max FRC}$ después del salbutamol que fue administrado presurizado o nebulizado.

IV. 1. 3. Relación de los valores de $V_{\max FRC}$ % del previsto, basal y respuesta al broncodilatador en la fase aguda de bronquiolitis con los valores de ECP

Para estudiar la relación entre los niveles de ECP en suero y las pruebas de función pulmonar hemos dividido el grupo de lactantes con bronquiolitis en dos subgrupos, uno con ECP alta y otro con ECP baja, siendo el punto de corte 20 mcg/L¹⁶¹.

Los resultados se muestran en la tabla VIII.

Grupo	$V_{\max FRC}$ (%) PRE	% de variación
Grupo de ECP normal (≤ 20 mcg) n= 22	29 \pm 16 [8-73]	-20 \pm 26 [-65+20] n=19
Grupo de ECP elevada (> 20 mcg) n=12	33 \pm 14,7 [16-55]	-21 \pm 33 [-74+39] n=11
<i>p</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Tabla VIII. $V_{\max FRC}$, % del previsto, basal y respuesta de al broncodilatador en la fase aguda en los grupos con ECP normal y elevada media \pm desviación estándar y [rango]. n= n° de pacientes. *p*: grado de significación.

Los valores de $V_{\max FRC}$, tanto basales como tras la aplicación del broncodilatador, se comportan independientemente de los valores de ECP.

IV. 1. 4. Relación de los valores de saturación de O₂ con las pruebas de función pulmonar basal, $V_{\max\text{FRC}}$ % del previsto, en la fase aguda de la bronquiolitis y respuesta al broncodilatador

En la tabla IX se recogen los resultados de $V_{\max\text{FRC}}$, expresados en % del previsto, obtenidos antes del broncodilatador y el % de variación después de su aplicación en los que la saturación de O₂ basal es < 90% con respecto a aquellos cuya saturación de O₂ basal es > 90%. Sólo fue posible recoger la saturación de oxígeno en 18 niños.

	$V_{\max\text{FRC}}$ (%) PRE	% de variación
Grupo de saturación O ₂ ≤ 90 n=13	30,4±18,8 [9-73]	-19±30 [-66±42]
Grupo de saturación O ₂ > 90 n=5	25,2±16 [8-46]	-18±42 [-74+21]
<i>p</i>	ns	ns

Tabla IX. Valores de la función pulmonar basal y variabilidad tras el broncodilatador, $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, en la fase aguda de la bronquiolitis en aquellos con saturación de O₂ basal ≤ 90% y > 90%. Media ± DE y [rango]. n= nº de pacientes *p*: probabilidad.

No observamos diferencia entre la función pulmonar, $V_{\max\text{FRC}}$ % del previsto, obtenida antes y después de la aplicación del broncodilatador, entre ambos grupos de saturación de O₂ basal > o < de 90%.

IV. 1. 5. Relación de los valores de la puntuación clínica con las pruebas de Función Pulmonar, $V_{\max FRC}$ % del previsto basal y respuesta al broncodilatador, en el episodio agudo de bronquiolitis

Para valorar la correlación entre los valores de la puntuación clínica basal, con la función pulmonar obtenida antes y después del broncodilatador, en el episodio agudo de bronquiolitis, se dividieron los lactantes en dos subgrupos, uno con puntuación clínica peor (> 7) y otro con puntuación clínica mejor (≤ 7). La puntuación clínica, como se detalló en el apartado de material y métodos, se obtuvo aplicando la escala de puntuación para distrés respiratorio de Lowell (RDAI) XIII-B, corregida con la frecuencia respiratoria, recogida en la tabla II. Los valores se recogen en la tabla X.

	$V_{\max FRC}$ (%) PRE	% de variación
Grupo de puntuación clínica basal ≤ 7 n= 19	33,20 \pm 17,95 [9-73]	-18 \pm 34 [-74+42]
Grupo de puntuación clínica basal > 7 n=12	20,73 \pm 10,42 [7-40]	-21 \pm 24 [-48+21]
<i>p</i>	0,01	ns
IC	+2,6;+22,3	

Tabla X. Valores de la función pulmonar: $V_{\max FRC}$, % del previsto, basal y tras broncodilatador, en aquellos con Puntuación clínica basal $>$ y $<$ de 7. Media \pm DE y [rango], IC: intervalo de confianza para la diferencia. n° de pacientes. *p*: grado de significación.

Se observó una buena correlación entre la puntuación clínica basal y el $V_{\max\text{FRC}}$ antes de la aplicación del broncodilatador que tuvo significación estadística, y no se encontró relación entre los valores después de la aplicación del salbutamol.

En la tabla XI se recogen los valores de V_{\max} correspondientes a los grupos de lactantes con cambios clínicamente significativos, es decir mayor de ± 4 puntos.

Cambio de la puntuación clínica tras Bd	Cambio de $V_{\max\text{FRC}}$ (%)
Empeoramiento ($\geq + 4$ puntos) $n=5$	-27 ± 32 [-74+16]
Mejoría ($> - 4$ puntos) $n=1$	+36
p	<i>ns</i>

Tabla XI. Valores del cambio en la función pulmonar $V_{\max\text{FRC}}$, en %, tras broncodilatador en relación con el cambio en la puntuación clínica tras broncodilatador. Empeoramiento clínico: $\geq + 4$ puntos, mejoría $\geq - 4$ puntos. Media \pm DE y [rango]. $n = n^\circ$ de pacientes, p : grado de significación.

Se observa un paralelismo entre el cambio clínico sufrido con el de la función pulmonar, aunque no es estadísticamente significativo.

IV. 1. 6. Relación de los valores de la puntuación clínica con los valores de ECP

En este apartado se comparan los valores de la puntuación clínica en el episodio agudo de bronquiolitis, obtenidos antes y después de la aplicación del

broncodilatador con los valores de ECP. Para ello se siguieron los mismos criterios que en el apartado IV.3. Los resultados se encuentran en la tabla XII.

	Puntuación clínica PRE	Puntuación clínica POST	cambio puntuación
ECP \leq 20 mcg n= 21	7 \pm 4 [1-14]	9 \pm 4 [0-15]	2 \pm 3 [-4+7]
ECP > 20 mcg n= 11	5 \pm 2 [1-8]	8 \pm 3 [4-13]	2,8 \pm 2,3 [0-6]
IC	-0,3;+4,3	-1,8; +3,2	-2,8;1
<i>p</i>	ns	ns	ns

Tabla nº XII. Valores de la puntuación clínica PRE y POST, con respecto a la aplicación del broncodilatador, en relación con los valores de ECP $>$ o \leq a 20 mcg/l. Media \pm DE y [rango], IC: intervalo de confianza para la diferencia. n= nº de pacientes *p*: grado de significación.

No encontramos relación estadísticamente significativa entre los valores de la puntuación clínica para el distrés en el episodio agudo de bronquiolitis, con los valores de ECP.

IV. 1. 7. Relación de la saturación de O₂ basal y después del broncodilatador con los valores de ECP

Dado que el deterioro clínico de los lactantes con bronquiolitis se puede objetivar además de con la puntuación clínica, con la medición de la saturación de O₂, se ha querido analizar si los grupos con ECP normal y elevada tenían una saturación de

O₂ diferente, tanto antes como después de la aplicación del broncodilatador. Los resultados se recogen en la tabla XIII.

	Saturación O ₂ PRE	Saturación O ₂ POST	Cambio
ECP ≤ 20 mcg n= 10	88±4,5 [80-98]	87±6 [76-95]	-1±5 [-12+5]
ECP > 20 mcg n= 7	89±5 [80-95]	86±4 [82-91]	-3±4 [-8+5]
<i>p</i>	ns	ns	ns

Tabla nº XIII. Valores de la Saturación de O₂ PRE y POST, con respecto a la aplicación del broncodilatador, en relación con los valores de ECP > o ≤ a 20 mcg/l. Media ± DE y [rango]. n= nº de pacientes *p*: grado de significación.

No se objetiva ninguna relación entre los valores de saturación de O₂ previos y posteriores a la aplicación del broncodilatador y los valores elevados o normales de ECP, es decir con un mayor o menor grado de activación eosinofílica.

IV. 2. RESULTADOS DEL GRUPO DE PACIENTES DURANTE EL AÑO POSTERIOR A LA BRONQUIOLITIS

IV. 2. 1. Descripción del grupo de pacientes al año del episodio agudo de bronquiolitis

A los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo de bronquiolitis se realizaron nuevos controles en el grupo de pacientes que habían padecido bronquiolitis. A continuación se detallan sus características demográficas.

IV. 2. 2. Características demográficas

Los diferentes datos antropométricos de sexo, edad, peso y talla pertenecientes a los lactantes del grupo al año del episodio agudo de bronquiolitis se recogen en la tabla XIV. El grupo estuvo formado por 24 lactantes; los 11 restantes, hasta 35 que formaba el grupo inicial de bronquiolitis, no se presentó a todas las revisiones.

nº de pacientes	edad (días)	peso (Kg)	talla (cm)
24 (62% niños)	498±75 [403-742]	11,08±1,37 [8,9-13]	79,72±3,8 [72,5-85]

Tabla nº XIV. Valores antropométricos pertenecientes de los lactantes después de un año del episodio agudo de bronquiolitis. Media ± DE[rango].

IV. 2. 3. Evolución clínica

Durante el año siguiente al episodio agudo de bronquiolitis, se realizaron revisiones a los 4, 6 y 12 meses. En ellas se recogió la evolución clínica, número de crisis o episodios de sibilancias durante el año siguiente a la bronquiolitis. Los valores encontrados fueron de $2,9 \pm 3,7$ como media \pm DS con un máximo de 17 crisis y mínimo a 0.

La tabla XV muestra el número de crisis habidas en los diferentes periodos del primer año después de la bronquiolitis.

Grupo Postbronquiolitis	Fase Aguda - 4 meses	4 - 6 meses	6 - 12 meses
	(Nov a Marzo)	(Abril a Mayo)	(Junio a Nov)
nº de crisis	$1,4 \pm 1,7$ [0-7]	$0,4 \pm 0,7$ [0-2]	$1,1 \pm 2$ [0-8]
n	24	24	23
nº de crisis al mes	0,3	0,2	0,19

Tabla XV. Número de crisis en el grupo de pacientes a lo largo del año siguiente a la bronquiolitis. FA: fase aguda (periodo del año). n: nº de pacientes. Media \pm DE [rango].

Se puede observar que el número de crisis se va espaciando a lo largo de los meses en la medida en que se van distanciando del episodio de la bronquiolitis.

IV. 2. 4. Pruebas de función pulmonar

Durante el primer año después del episodio agudo de bronquiolitis a los 4, 6 y 12 meses se realizaron las mismas pruebas de función pulmonar que en el episodio agudo: $V_{\max FRC}$, % del previsto, basal y después del broncodilatador; la distensibilidad y la resistencia total del sistema respiratorio. Los resultados se recogen en los siguientes apartados.

a) Valores de $V_{\max FRC}$. Los valores de $V_{\max FRC}$ tanto basales como después de la aplicación del broncodilatador se obtuvieron con la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”.

Valores basales de $V_{\max FRC}$: Los resultados obtenidos en las determinaciones realizadas a los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo se compararon con los de la fase aguda. Sus valores se recogen en la tabla XVI y en la figura 14.

	Bronquiolitis	4 meses	6 meses	12 meses	<i>p</i>
% $V_{\max FRC}$	30,56±15 [7-72,7]	52,5±19,4 [19-101]	57,5±23,8 [11-118]	58,8±18,6 [12-92]	<0,001
n	35	25	26	24	

Tabla XVI. Valores de $V_{\max FRC}$, % del previsto, basales en la Bronquiolitis y durante el año que sigue a la bronquiolitis. Media ± DE [rango]. Comparación mediante prueba ANOVA *p*: grado de significación (ANOVA). Las diferencias entre parejas se estudian con la prueba de Newman-Keuls para comparaciones múltiples y son estadísticamente significativas para la diferencia entre Bronquiolitis -4m, Bronquiolitis -6m y Bronquiolitis -12m. ($p < 0,01$ para todas estas). n: nº de pacientes

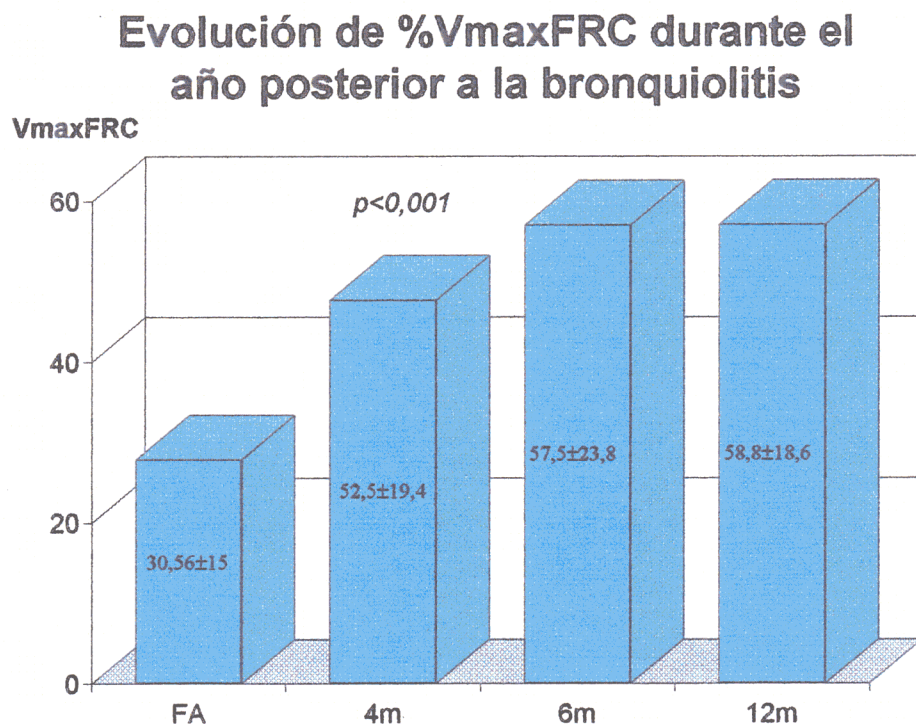


Figura 14. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, expresados en % del valor correspondiente a su talla en la FA: fase aguda, a los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo. p : grado de significación entre parejas: FA-4m, FA-6m y FA-12m.

Como puede observarse en los datos precedentes, los valores experimentaron una mejoría ya en la primera revisión, a los 4 meses de la bronquiolitis, de casi el doble de los valores obtenidos en la fase aguda, pasando del 30% al 52% de los valores previstos. En las revisiones sucesivas, a los 6 y 12 meses del episodio agudo, se observó una tendencia a la normalización de V_{\max} , aunque en ningún momento se llegó a alcanzar la normalidad.

Se hicieron dos grupos con respecto a los valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal, uno con los lactantes cuyos valores de $V_{\max\text{FRC}}$ basales fueron $> 60\%$, y otro con valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, $< 60\%$, en la FA y durante el año que sigue a la

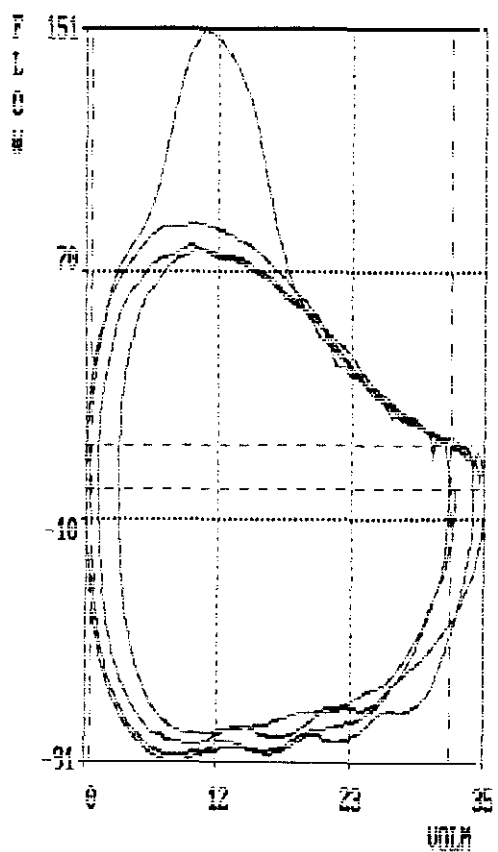
bronquiolitis y se determinaron cuales de ellos habían sido VRS+. Los valores se recogen en la tabla XVII.

	FA	4 meses	6 meses	12 meses
$\%V_{\max\text{FRC}} > 60$	72,62	76,48 \pm 14,33 [62,12-101]	83,61 \pm 18,19 [64,8-118,75]	71,78 \pm 9,59 [60,1-92]
	n=1 (VRS=1)	n=8 (VRS=5)	n=9 (VRS=7)	n=14 (VRS=13)
$\%V_{\max\text{FRC}} < 60$	29,33 \pm 13,7 [7,5-55]	42,87 \pm 11 [19-56,85]	43,7 \pm 11,75 [11,37-59,4]	42,22 \pm 13,25 [12,58-59,94]
	n=34 (VRS=30)	n=20 (VRS=16)	n=17 (VRS=13)	n=11 (VRS=8)

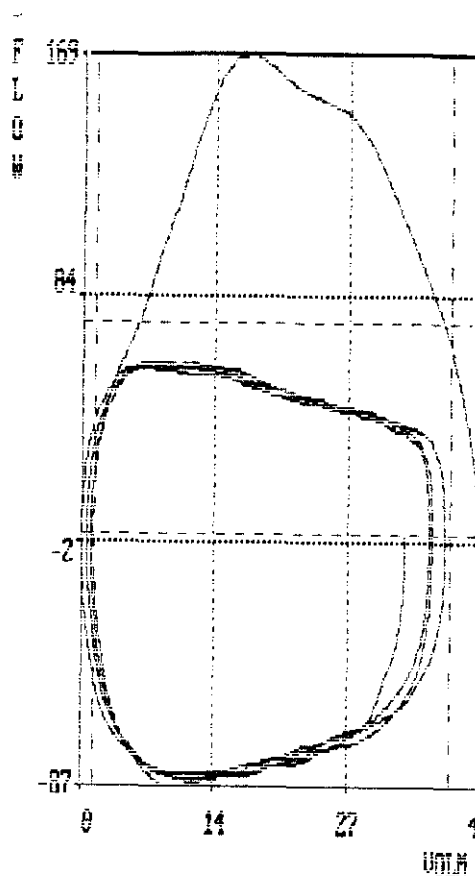
Tabla XVII. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basales > y < 60% en la FA y durante el año que sigue a la bronquiolitis. Media \pm DE [rango]. n: n° de niños. VRS: n° de niños VRS+.

Además de los valores numéricos objetivados en la tabla de los resultados, se observó un cambio en la morfología de las curvas obtenidas en la evolución durante el primer año después de la bronquiolitis con respecto a las de la fase aguda. En las curvas obtenidas en el episodio agudo de bronquiolitis se observaba una acentuada concavidad en la porción espiratoria de la curva flujo-volumen con la maniobra de espiración forzada con la chaquetilla, que casi se superpone con la porción espiratoria de la curva a volumen corriente y que traduce la importante obstrucción bronquial de estos lactantes.

Se aprecia una importante disminución de la concavidad de la curva flujo-volumen y mejoría del valor de $V_{\max\text{FRC}}$ obtenido a los 4 meses del episodio agudo de bronquiolitis, aunque no llega a corregirse, y se mantiene durante el primer año posterior a la bronquiolitis. Este cambio en la forma de las curvas traduce el mejoramiento de la obstrucción bronquial. Figura n° 15.



a.



b.

Figura 15-a. Curva flujo-volumen basal. Determinación de V_{maxFRC} obtenido con técnica de "expiración parcial forzada con chaquetilla neumática" correspondiente a lactante en la bronquiolitis. 15-b. Curva flujo-volumen basal. V_{maxFRC} correspondiente a lactante a los 4 meses del episodio agudo de la bronquiolitis. Se muestra la diferencia entre las curvas en la fase aguda y a los 4 meses del episodio agudo de la bronquiolitis.

. **Variabilidad de $V_{\max\text{FRC}}$ tras broncodilatador:** Para valorar el cambio en $V_{\max\text{FRC}}$ obtenido tras la aplicación del broncodilatador con respecto a los valores basales de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, en las revisiones correspondientes a los 4, 6 y 12 meses, se aplicó, al igual que en la fase aguda, la maniobra de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” antes y después del broncodilatador y se comparó con la obtenida en la fase aguda. Los resultados se recogen en la tabla XVIII. La figura 16 expresa los valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal y tras broncodilatador del grupo completo en su evolución durante el primer año tras la bronquiolitis.

	$V_{\max\text{FRC}}$ PRE	Vmax POST	<i>p</i>	IC
FA n=31	31,7±15 [7-73]	22,38±8,8 [9,5-45]	0,0003	4,5;14
4m n=25	52,9±20 [19-101]	47,9±20 [5,9-90]	0,05	-0,12;9,9
6m n=26	57,9±24,6 [11-118]	58,8±23,9 [7,6-105,7]	0,9	-6,8;7
12m n=24	57,5±19 [12-92]	56±21,5 [10,2-93,9]	0,17	-1,1;5,9

Tabla nº XVIII. Valores de la $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, PRE y POST broncodilatador, en los lactantes en la FA: fase aguda, a los 4, 6 y 12 meses después del episodio agudo de bronquiolitis. n: nº de pacientes. Media ± DE [rango]. IC: intervalo de confianza para la diferencia. *p*: grado de significación.

Variabilidad de %Vmax al broncodilatador al año de la bronquiolitis

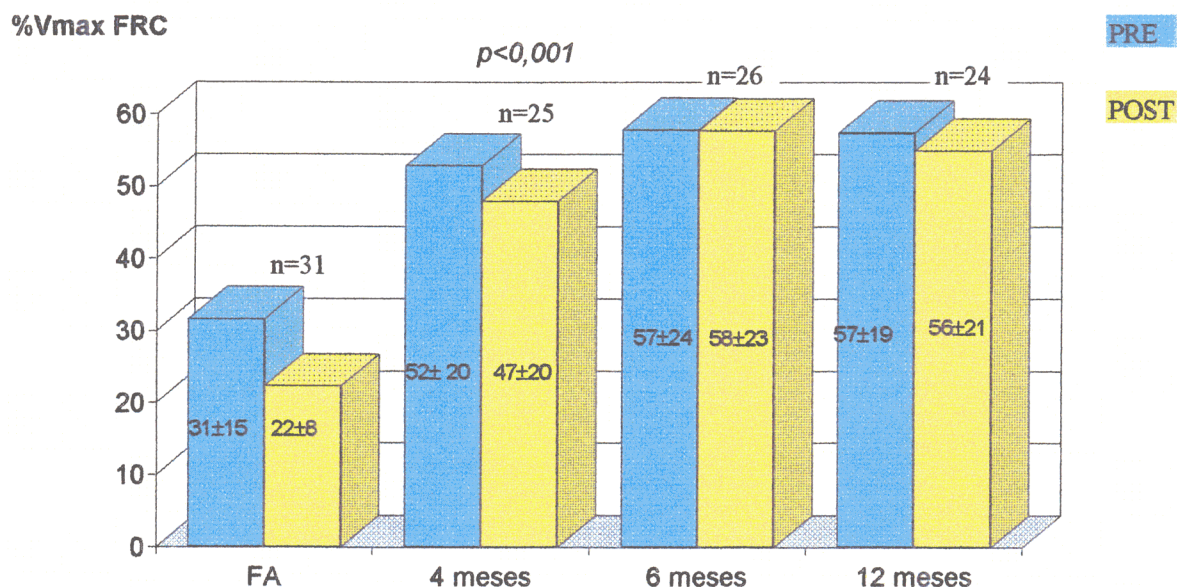


Figura 16. Valores de la $V_{\max FRC}$, % del previsto, PRE y POST broncodilatador, en los lactantes durante el año siguiente al episodio agudo de bronquiolitis. $n = n^\circ$ de niños. p : grado de significación entre los valores de la bronquiolitis y cada una de las revisiones a los 4, 6 y 12 meses.

En los resultados obtenidos durante la bronquiolitis y a los 4 meses se observó una tendencia al deterioro de $V_{\max FRC}$ después de la aplicación del broncodilatador, que es significativo en la bronquiolitis y casi significativa los 4 meses, sin embargo no lo es a los 6 y 12 meses.

Se dividió en dos grupos a los lactantes que habían tenido $V_{\max FRC} \% > y < de 60\%$ basal, y se determinó en estos grupos su variabilidad tras broncodilatador tanto en la bronquiolitis como en su evolución durante el año posterior. Los resultados del grupo $V_{\max FRC} \% > 60\%$ y $< 60\%$ se recogen en la tabla XIX.

	FA	4 meses	6 meses	12 meses
$V_{\max\text{FRC}}$ % PRE > 60%	n=1	n=8	n=9	n=14
	72,62	76,48±14,33 [62,12-101]	83,61±18,19 [64,8-118,75]	71,78±9,59 [60,1-92]
$V_{\max\text{FRC}}$ % cambio	-65	-13,49±16,6 [-37,7;13,2]	-4,89±24 [-27,21;39]	-1,2±12,15 [-19;23,83]
$V_{\max\text{FRC}}$ % PRE < 60%	n=34	n=20	n=17	n=11
	29,33±13,7 [7,5-55]	42,87±11 [19-56,85]	43,7±11,75 [11,37-59,4]	42,22±13,25 [12,58-59,94]
$V_{\max\text{FRC}}$ % cambio	-20±27,3 [-74,6;39,2]	-10,57± 31,45 [-84,60;55,8]	11,02±33,28 [-33,98;70,43]	-10,48±18,02 [-36;25,26]

Tabla XIX. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal > 60% y < 60% y variabilidad tras broncodilatador en la fase aguda, a los 4, 6 y 12 meses. n= n° de pacientes. Media ± DE [rango].

No se encontró diferencia en el cambio tras broncodilatador entre los grupos con $V_{\max\text{FRC}}$ basal % > 60% y < 60%.

Para valorar como es la función pulmonar basal de los niños con hiperreactividad bronquial clínicamente significativa: cambio mayor del 30% después de la aplicación del salbutamol, se determinó la función pulmonar, $V_{\max\text{FRC}}$, de los lactantes con respuesta > ±30% y sus valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal correspondientes, a los 4, 6 y 12 meses. Los resultados se recogen en la tabla XX y XXI respectivamente.

	4 meses	6 meses	12 meses
	n=5	n=3	n=2
Variabilidad de $V_{\max\text{FRC}}$ > -30%	-49,2±20,9 [-84,6-33,2]	-33±0,9 [-33,8;-32,6]	-36,7±2,3 [-35;-38,3]
Variabilidad de $V_{\max\text{FRC}}$ > +30%	n=1 55,87	n=8 44,81±13 [32; 70,43]	n=0
<i>p</i>	ns	<0,001	ns
IC		66,8; 88,8	

Tabla XX. Variabilidad de $V_{\max\text{FRC}}$ tras broncodilatador clínicamente significativa: broncoconstricción >-30% y broncodilatación >+30% a los 4, 6 y 12 meses. n: nº de pacientes. Media ± DE [rango]. *p*: grado de significación IC: intervalo de confianza.

Grupo variabilidad	$V_{\max\text{FRC}}$ basal 4 meses	$V_{\max\text{FRC}}$ basal 6 meses	$V_{\max\text{FRC}}$ basal 12 meses
$V_{\max\text{FRC}} > -30\%$	42,4±16,5 [19-62,1] n=5	34,27±19,9 [11,37-47,76] n=3	36,7±2,3 [35-38,3] n=2
$V_{\max\text{FRC}} > +30\%$	23,6 n=1	51,3±18,23 [31,16-77,7] n=8	-- n=0
<i>p</i>	ns	ns	ns

XXI. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal durante el primer año después de la bronquiolitis en los grupos de lactantes con respuesta de broncoconstricción >-30% y broncodilatación >+30% tras la aplicación del broncodilatador determinado con $V_{\max\text{FRC}}$. Media ± DE [rango]. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación.

b) Valores de la distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs}). Los valores de la distensibilidad se obtuvieron con la técnica de “oclusión única teleinspiratoria”. Los resultados se recogen en la tabla XXII y en la figura nº 17.

	Bronquiolitis	4 meses	6 meses	12 meses	<i>p</i>
Distensibilidad	0,83±0,28 [0,3-2,15]	1,6±0,55 [0,8-2,8]	1,97±0,9 [0,68-3,85]	2,04±0,9 [0,8-4,5]	=0,0003
n	24	24	23	18	

Tabla nº XXII. Valores de la distensibilidad expresados en ml/ cmH₂O Kg en su evolución desde la bronquiolitis al año siguiente. Media ± DE [rango]. Diferencia entre parejas de Bronquiolitis-4m, Bronquiolitis-6m y Bronquiolitis-12m: $p < 0,001$, intervalo de confianza para la diferencia: -1,08; -0,5; -1,5; -0,71 y -1,7; -0,74 respectivamente. n: nº de pacientes.

Distensibilidad del sistema respiratorio al año de la bronquiolitis

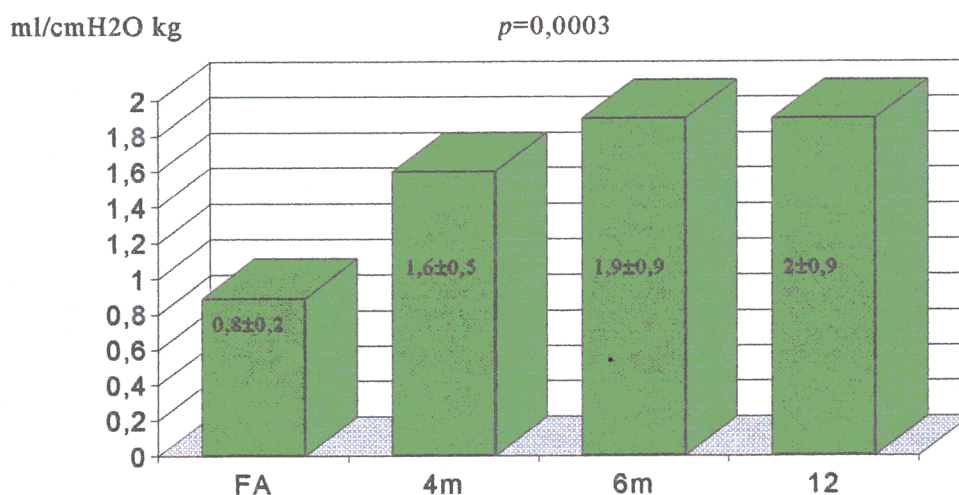


Figura 17. Valores de la distensibilidad expresados en ml/ cm H₂O Kg. en la Fase aguda, a los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo. *p*: grado de significación.

Encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos en la fase aguda y los que se encuentran a los 4, 6 y 12 meses de la bronquiolitis respectivamente. Al 4º mes se observa normalización de los valores de C_{rs}^{162} . Esta normalización sigue manteniéndose a los 6 y 12 meses de la bronquiolitis.

c) Valores de la resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs}). En cuanto a los valores de la resistencia total del sistema respiratorio del grupo de lactantes al año del episodio agudo de bronquiolitis los resultados se encuentran en la tabla XXIII y en la figura nº 18.

	Bronquiolitis	4 meses	6 meses	12 meses	p
Resistencia	54,9±19 [23-102,5]	44,3±15 [28-77]	42±13 [25-75]	44,8±14 [31-89]	=0,03
n	24	24	23	19	

Tabla nº XXIII. Valores de la resistencia total de sistema respiratorio en la evolución, al año del episodio agudo de bronquiolitis. Media ± DE [rango]. Diferencia entre parejas de Bronquiolitis-4m: $p < 0,05$, intervalo de confianza para la diferencia: 2,18; 18,94; t de Student: 2,60; Bronquiolitis -6m: $p < 0,05$, intervalo de confianza para la diferencia: 2,9; 24, t de Student: 2,62 y Bronquiolitis -12m: $p < 0,1$, intervalo de confianza para la diferencia: -0,005; 20,37, t de Student: 2,09. n: nº de pacientes.

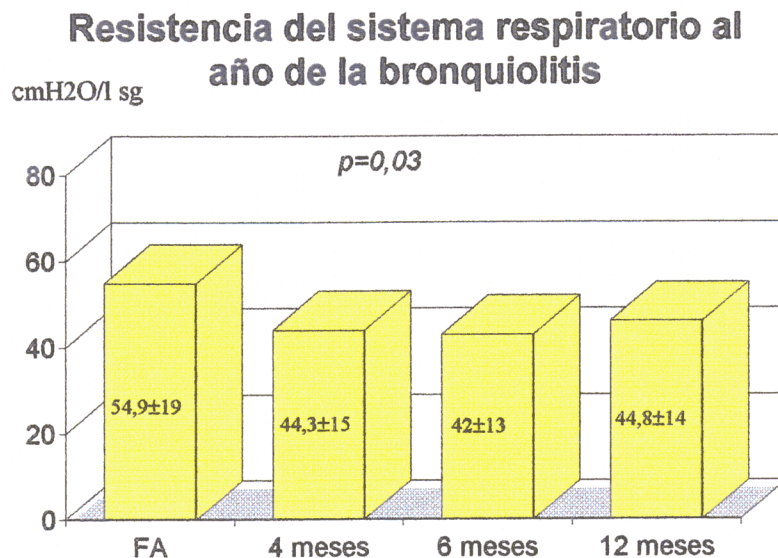


Figura 18. Valores de la resistencia expresados en cm H₂O/ L sg, en la FA: fase aguda, a los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo. *p*: grado de significación.

Encontramos una disminución en los valores de la resistencia, a los 4, 6 y 12 meses con respecto a los valores de la fase aguda, lo que supone una mejoría, que es estadísticamente significativa entre la fase aguda y la resistencia obtenida a los 4 y 6 meses y casi significativa entre los de la fase aguda y los obtenidos a los 12 meses. Aunque esta prueba no resultó sensible, pues incluso en la bronquiolitis los valores medios de la resistencia eran normales.

IV. 2. 5. Valores de ECP sérica

Durante el año siguiente al episodio agudo de bronquiolitis, a los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo, se determinó la ECP en suero, expresando los valores en mcg/L. Los resultados se recogen en la tabla XXIV donde se muestran los valores correspondientes a cada momento evolutivo a lo largo del año siguiente a la

bronquiolitis. La figura 19 refleja los valores de ECP en el episodio agudo y al año de la bronquiolitis.

	FA	4 meses	6 meses	12 meses	<i>p</i>
ECP (mcg/L)	20,14±16 [2-57] n=35	26,6±18,6 [3,7-72] n=28	26,8±20,7 [2,8-96] n=25	26,8±17,8 [2,5-66,4] n=21	<i>ns</i>

Tabla XXIV. Valores de ECP sérica del grupo completo de niños en la fase aguda de la bronquiolitis, a los 4, 6 y 12 meses del episodio agudo. Media ± DE [rango]. *p*: ns entre FA y cada una de las revisiones, a los 4, 6 y 12 meses. n: n° de pacientes. *p*: grado de significación.

Valores de ECP en la fase aguda y al año de la bronquiolitis

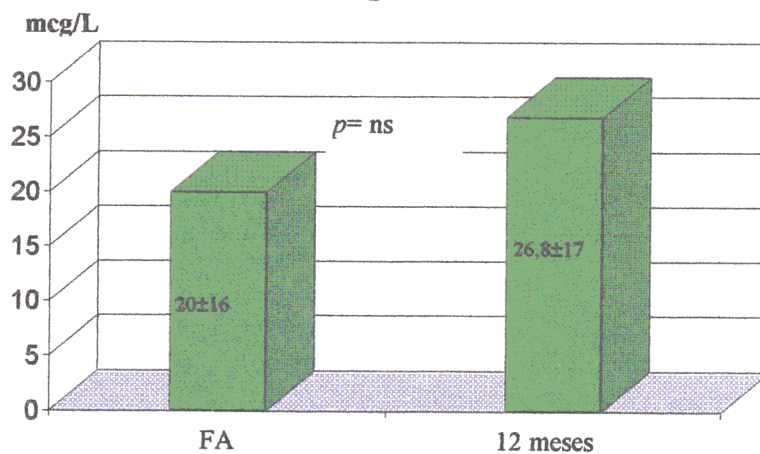


Figura 19. Valores de ECP sérica, expresados en mcg/L, del grupo completo de niños en la FA: fase aguda y al año de la bronquiolitis. *p*: grado de significación.

Se observa una tendencia al aumento de la ECP, que no es estadísticamente significativa, a los 4 meses después del episodio agudo. A partir de ese momento se mantienen constantes durante todo el primer año después de la bronquiolitis.

Se hicieron dos subgrupos uno con los lactantes que tuvieron la ECP sérica elevada, >20 mcg/L y otro con los que tuvieron la ECP baja, ≤ 20 mcg/L en las determinaciones de los 4, 6 y 12 meses. Los resultados se recogen en la tabla XXV.

	4 meses	6 meses	12 meses
ECP ≤ 20 mcg/L (n)	12,7 \pm 4 [3,78-19]	12,3 \pm 4,4 [2,8-17,7]	10,8 \pm 4,5 [2,5-18,3]
n	14	11	8
ECP > 20 mcg/L	40,5 \pm 17 [21,2-72,1]	38,2 \pm 21,3 [20,3-96,7]	36,7 \pm 15,5 [20,9-66,4]
n	14	14	13

Tabla XXV. Valores de ECP \leq y $>$ de 20 mcg/L en los distintos meses al año del episodio agudo de bronquiolitis. n: nº de pacientes

IV. 2. 6. Valores de $V_{\max FRC}$ en relación con la evolución clínica

Para comparar la función pulmonar de los grupos de lactantes con buena y mala evolución clínica, se tomó la misma distribución de niños en los grupos con menos de 2 y 2 o más crisis o episodios de sibilancias, para relacionarlo con la función pulmonar, $V_{\max FRC}$, % del previsto, basal y su variabilidad tras la aplicación del broncodilatador de cada uno de los dos grupos. Estas determinaciones se realizaron en el episodio agudo, a los 4, 6 y 12 meses de la bronquiolitis. Los resultados se recogen en las tablas XXVI, XXVII, XXVIII y XXIX.

	$V_{\max FRC}$ basal	% de cambio $V_{\max FRC}$
Grupo de < 2 crisis n=13	32,3±15,6 [] (10)	-23,8±28
Grupo de ≥ 2 crisis n=12	35,6±17,2 [] (13)	-27±29
<i>p</i>	ns	ns

Tabla nº XXVI. Valores de $V_{\max FRC}$, % del previsto, en la fase aguda de la bronquiolitis en relación con la evolución clínica: < 2 crisis o ≥ 2 crisis al año siguiente de la bronquiolitis. n: nº de pacientes Media ± DE [rango]. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación.

	$V_{\max\text{FRC}}$ basal	% de cambio $V_{\max\text{FRC}}$
Grupo de < 2 crisis n=9	50,8±18,8 [32,9-93,4]	-10±20 [-53;15]
Grupo de ≥ 2 crisis n=11	50,8±21,1 [19-101]	-9±28 [-39;54]
<i>p</i>	ns	ns

Tabla nº XXVII. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, a los 4 meses de la bronquiolitis en relación con la evolución clínica: < 2 crisis o ≥ 2 crisis al año siguiente de la bronquiolitis. n: nº de pacientes. Media ± DE [rango]. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación

	$V_{\max\text{FRC}}$ basal	% de cambio $V_{\max\text{FRC}}$
Grupo de < 2 crisis n= 11	50,11±20,2 [11,2-87]	32±31 [-20;85]
Grupo de ≥ 2 crisis n=10	65±26,9 [31,3-117,3]	-13±36 [-26;92]
<i>p</i>	ns	ns

Tabla nº XXVIII. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, a los 6 meses de la bronquiolitis en relación con la evolución clínica: < 2 crisis o ≥ 2 crisis al año siguiente de la bronquiolitis. n: nº de pacientes. Media ± DE [rango]. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación

	V_{maxFRC} basal	% de cambio V_{maxFRC}
Grupo de < 2 crisis n=11	64,9±19,2 [30,9-91,9]	-4±13 [-35;9]
Grupo de ≥ 2 crisis n=12	49,9±18,8 [12,5-76]	6±18 [-33;26]
<i>p</i>	< 0,05	ns
IC	-2,4;-34,2	

Tabla nº XXIX. Valores de V_{maxFRC} , % del previsto, a los 12 meses de la bronquiolitis en relación con la evolución clínica: < 2 crisis o ≥ 2 crisis al año siguiente de la bronquiolitis. n: nº de pacientes. Media ± DE [rango]. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación. IC: intervalo de confianza para la diferencia.

Se observó una diferencia que es significativa entre los valores de V_{maxFRC} basal obtenidos a los 12 meses del grupo de niños que durante el primer año tuvieron dos o más crisis comparada con la de aquellos que tuvieron menos de dos crisis en el primer año después de la bronquiolitis. Sin embargo no se encontraron estas diferencias en la fase aguda, a los 4 y 6 meses.

La figura 20 recoge el V_{maxFRC} al año de la bronquiolitis en los grupos de 2 o más crisis y menos de 2 crisis/año.

% de V_{max} al año de la bronquiolitis en los grupos de ≥ 2 y < 2 crisis/año

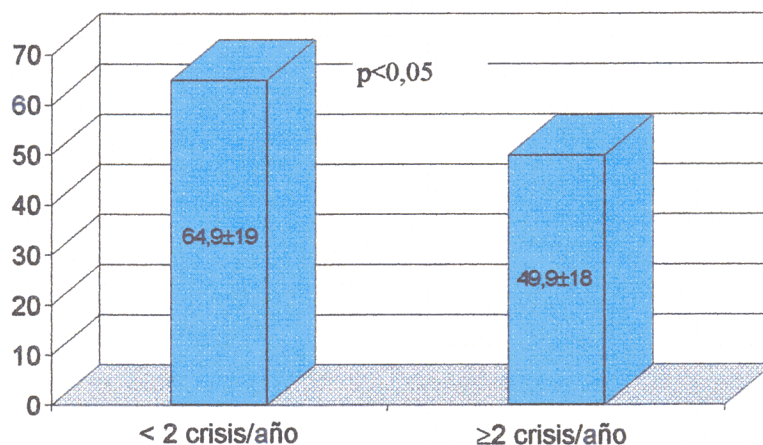


Figura 20. V_{max}FRC, % del previsto, al año de la bronquiolitis en los grupos de más y menos de 2 episodios de sibilancias/año.

En la tabla XXX se recogen el número de crisis total durante el primer año después de la bronquiolitis en los grupos de lactantes con broncodilatación o broncoconstricción superior al 30% tras la aplicación del broncodilatador determinado con V_{max}FRC.

	nº de crisis 4 meses	nº de crisis 6 meses	nº de crisis 12 meses
Grupo de variabilidad $V_{\max FRC} < 30\%$	$1,6 \pm 1,5$ [0-3] n=5	0 n=3	$1,5 \pm 2,1$ [0-3] n=2
Grupo de variabilidad $V_{\max FRC} > 30\%$	3 n=1	$0,12 \pm 0,35$ [0-1] n=8	0 n=0
<i>p</i>	ns	ns	ns

XXX. Nº de crisis total durante el primer año después de la bronquiolitis en los grupos de lactantes con broncodilatación o broncoconstricción $>30\%$ después del broncodilatador determinado con $V_{\max FRC}$. Media \pm DE [rango]. n: nº de pacientes. *p*: grado de significación.

No se encuentra ninguna diferencia entre la evolución clínica en cuanto al número de crisis de los grupos con respuesta de broncodilatación o broncoconstricción mayor al 30% después de la aplicación del salbutamol.

IV. 2.7. Relación de los valores de ECP con los valores de función pulmonar

Los resultados de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal y el cambio tras la aplicación del broncodilatador relacionados con la ECP sérica se recogen en la tabla XXXI.

	$V_{\max\text{FRC}}$ (%) PRE	% de variación
Grupo de lactantes con ECP elevada (>20 mcg)	59 ± 19 [30-91]	$-4,7 \pm 16$ [-36+25]
n	12	
Grupo de lactantes con ECP normal (≤ 20 mcg)	$60,3 \pm 22$ [12,5-92]	$0,35 \pm 13$ [-18+23]
n	8	
p	ns	ns

Tabla XXXI. Valores de $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, basal y tras broncodilatador en los grupos de lactantes con ECP normal y elevada, obtenidos al año del episodio agudo de bronquiolitis. Media \pm DE [rango]. n: n° de pacientes. p: grado de significación.

No se observa una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos de ECP elevada y normal.

Los valores de la ECP en mcg/l durante el primer año después de la bronquiolitis en los grupos de lactantes con broncodilatación o broncoconstricción >30% después del broncodilatador determinado con $V_{\max\text{FRC}}$ se recogen en la tabla XXVI.

	ECP 4 meses	ECP 6 meses	ECP 12 meses
Grupo con variabilidad deV _{maxFRC} > -30%	23,75±14,9 [10,5-46,5] n=5	34,3±16,7 [21,6-53,3] n=3	22,2 n=1
Grupo con variabilidad deV _{maxFRC} > +30%	27,5 n=1	32 ±30 [10,9-96,7] n=8	-- n=0
<i>p</i>	ns	ns	ns

XXXII. Valores de la ECP en mcg/l durante el primer año después de la bronquiolitis en los grupos de lactantes con broncodilatación o broncoconstricción >30% después del broncodilatador determinado con V_{maxFRC}. Media ± DE [rango]. n: n° de pacientes. *p*: grado de significación.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los valores de ECP de ambos grupos: con respuesta broncodilatadora o broncoconstrictora > 30% después de la aplicación del salbutamol.

IV. 2. 8. Relación de los valores de ECP con la evolución clínica

Los valores de ECP sérica obtenidos al año del episodio agudo de bronquiolitis para los grupos de lactantes con 2 o más crisis de sibilancias y con menos de 2 crisis al año se recogen en la tabla XXXIII.

	valores de ECP (mcg/L)	n
Grupo de lactantes con < 2 crisis/año	24,7±17 [2,5-66]	10
Grupo de lactantes con ≥ 2 crisis/año	28,7±19 [10-60]	11
<i>p</i>	ns	

Tabla XXXIII. Valores de ECP a los 12 meses de la bronquiolitis, en relación con el número de crisis: < 2 y ≥ 2 crisis al año del episodio agudo de bronquiolitis. n: n° de pacientes. *p*: grado de significación.

No observamos ninguna diferencia entre los valores de ECP obtenidos al año de la bronquiolitis en el grupo de niños con dos o más crisis de sibilancias durante el primer año después de la bronquiolitis aguda y los del grupo de los que tuvieron menos de dos crisis.

V. COMENTARIOS

V. COMENTARIOS

V. 1. ALTERACIONES EN EL GRUPO DE PACIENTES EN EL EPISODIO AGUDO DE BRONQUIOLITIS

Como ya se ha expuesto en la introducción, hay un gran número de preguntas acerca del mecanismo fisiopatológico por el que se produce la obstrucción bronquial que ocasiona las sibilancias tanto en la fase aguda de la bronquiolitis como en su evolución a largo plazo.

Es un hecho, clínicamente demostrado que la obstrucción bronquial en la bronquiolitis es la respuesta a la colonización por parte de los virus de la vía aérea 17, 15, 16, 2.

Hay, sin embargo, un gran número de factores, no del todo conocidos, que favorecen la peculiar respuesta de la pequeña vía aérea a la viriasis dando lugar a un cuadro clínico de sibilancias, no sólo en el momento de la fase aguda, sino en la evolución posterior, principalmente en el año que sigue a su padecimiento.

De entre los factores que se desconocen acerca del papel de los virus en la inflamación bronquial encontramos en primer lugar la forma que tiene el virus de provocar la inflamación de la vía aérea. En segundo lugar el momento en que se inicia dicha inflamación, si hay un tiempo de latencia o sensibilización, el tiempo que dicha inflamación se mantiene y cuales son las células y mediadores de la inflamación que intervienen en cada momento evolutivo del proceso. En tercer lugar si la inflamación bronquial de la bronquiolitis es la misma que la del asma. Y por

último el modo en que influye la función pulmonar previa al padecimiento de bronquiolitis en la manifestación de los síntomas de distrés respiratorio y el grado de severidad.

V. 1. 1. VRS en secreciones nasofaríngeas

El germen más frecuentemente identificado como el agente etiológico de la bronquiolitis es el VRS.

En nuestro estudio se encontró que el 88% de los casos de bronquiolitis se debieron a este germen. Esta cifra es de las más elevadas entre las encontradas por la mayoría de los estudios de bronquiolitis que se localizan entre el 60 y el 90%^{17, 19, 16}. Quizá el motivo de nuestros resultados fue que el momento en que se realizó el estudio fue en época epidémica, de Noviembre a Febrero, y también que se incluyó en el estudio sólo a los lactantes con un cuadro clínico rigurosamente compatible con bronquiolitis. En la totalidad de los casos el estudio etiológico de las secreciones se realizó por técnica de inmunofluorescencia directa, a excepción de un lactante en el que no se pudo recoger la muestra. En los casos en los que resultó negativa la inmunofluorescencia, se realizó cultivo celular obteniéndose resultado positivo para VRS en dos de ellos.

V. 1. 2. Sedación con hidrato de cloral

Frecuentemente, en los estudios de función pulmonar realizados con lactantes es necesaria la sedación debido a la resistencia activa que ofrecen a la mascarilla, a la chaquetilla inflable y a otras manipulaciones, necesarias para la realización del

estudio. Esta sedación es considerada segura a las dosis utilizadas ⁶⁰.

Con respecto a los efectos del hidrato de cloral, algún estudio ⁴⁷ ha demostrado que el consumo de O₂ y la producción de CO₂ son débilmente superiores tras la administración de hidrato de cloral que, durante el sueño natural, pero este aumento de la producción de CO₂ no afecta a la respuesta del quimiorreceptor de CO₂, por lo que no hay respuesta en los patrones respiratorios. Así mismo otro estudio de Jackson E. ¹⁵³ realizado en lactantes sanos observa que tras la sedación con hidrato de cloral no hay cambios estadísticamente significativos si se compara con el cambio producido durante el sueño natural. Mallol J. ¹⁵⁴ confirma que no hay caída de la saturación de oxígeno tras la sedación con hidrato de cloral en los lactantes clínicamente estables desde el punto de vista respiratorio aunque sí la encuentra en los lactantes durante un episodio agudo de sibilancias. En cualquier caso la caída de la saturación de oxígeno tras el broncodilatador, se puede considerar debido al salbutamol puesto que en los dos momentos antes y después de su aplicación ya estaban bajo los efectos del hidrato de cloral.

La utilización de mascarilla facial puede dar lugar a alteraciones en el patrón respiratorio de los lactantes ⁴⁷, por lo que en el presente trabajo se tomó la precaución de hacer la lectura de saturación de oxígeno y frecuencia respiratoria a los 20 minutos de retirar la mascarilla y mantener al niño respirando aire ambiente.

El hidrato de cloral se considera seguro para niños con funcionalismo renal y hepático normal. Su principal ventaja es que no actúa como irritante gástrico, incluso a la dosis recomendada para la realización de la función pulmonar: 50-100 mg/Kg., que es mayor que la necesaria para inducir el sueño: 30-50 mg/K ¹⁵³.

Por último, también se ha cuestionado si los estudios que utilizan hidrato de cloral,

para la sedación ⁴⁷, dan lugar a resultados más alterados que los estudios que utilizan parámetros clínicos, debido a que en éstos últimos no se precisa sedación.

En el estudio llevado a cabo por nosotros, se consiguió sedar a todos los niños; en ninguno fue necesario desistir, aunque en algunos de los lactantes más mayores, el tiempo necesario para la sedación fue mayor.

V. 1. 3. Puntuación clínica

La medida por nosotros usada para evaluar la severidad de la bronquiolitis fue la puntuación clínica y la saturación de oxígeno. Con respecto a la medida de la puntuación clínica utilizada en el presente trabajo nos decidimos por la RDAI de Lowell (Respiratory Distress Assessment Instrument) que mide de forma muy adecuada las sibilancias y retracciones, en el distrés del lactante. Esta puntuación modificada con la frecuencia respiratoria es la utilizada en la Sección de Neumología para el distrés en lactantes. Los datos fueron obtenidos dentro de las primeras 24 horas del ingreso cuando todavía la afectación clínica era importante y los niños estaban aún hospitalizados.

En lo referente a la aplicabilidad de la puntuación clínica, aunque su determinación pueda parecer complicada, por el elevado número de ítems que es necesario puntuar, su aplicación se hace, por ello, más objetiva y es más segura su reproductibilidad. La valoración de la puntuación clínica se realizó, en todos los lactantes, por el mismo operador, tanto antes como después de la aplicación del salbutamol.

a) Puntuación clínica basal

Los resultados obtenidos en el presente estudio reflejan la afectación clínica debida a la obstrucción al flujo aéreo en el episodio agudo de bronquiolitis antes de la aplicación del broncodilatador. Los valores medios hallados en la puntuación clínica basal fueron de 6,4. Los valores de esta puntuación corresponden a un momento evolutivo dentro del episodio agudo en el que el lactante había pasado de 12 a 24 horas ingresado. Nuestros resultados son algo menores que los observados por Lowell DI ¹⁵⁹ y Klassen TP ²¹ para la puntuación clínica basal media encontrada en un grupo de lactantes con sibilancias, contando con la corrección para la frecuencia respiratoria.

Sería muy interesante poder determinar que porcentaje de la obstrucción observada en la vía aérea del lactante con bronquiolitis se debe a secreciones, edema y a broncoconstricción. Los escasos estudios de anatomía patológica llevados a cabo en lactantes con bronquiolitis o en modelos animales de experimentación ¹⁶³, han mostrado que esta obstrucción se debe principalmente a restos celulares y tapones de moco en la pequeña vía aérea ¹⁹.

La escala de puntuación utilizada en el presente trabajo para evaluar la severidad de la bronquiolitis fue la de Lowell ¹⁵⁹, modificada por nosotros con la frecuencia respiratoria, e incluyó: retracciones torácicas, sibilancias en la auscultación pulmonar y frecuencia respiratoria. La puntuación máxima correspondiente a la mayor afectación clínica para la escala de Lowell es de 17, quedando en 20 al sumarle la frecuencia respiratoria. Su puntuación media fue de 6,4, lo que podemos calificar de obstrucción bronquial moderada. El rango en el que se mueve esta puntuación tiene unos valores mínimos de 0 y máximos de 20 puntos. Las puntuaciones más elevadas significan mayor deterioro. Elegimos la escala de Lowell

frente a la de Wood-Downes para lactantes, porque la de Lowell puntúa la amplitud de la zona pulmonar afectada por las sibilancias y la de Wood-Downes no determina este factor.

b) Puntuación clínica tras salbutamol

Aún en estos momentos hay dudas fundadas acerca de la eficacia del broncodilatador en el tratamiento de los lactantes con bronquiolitis, y sigue siendo práctica habitual su utilización en la fase aguda de bronquiolitis. Por ello es de gran interés tratar de objetivar la eficacia de su uso por medio de medidas tanto clínicas como de función pulmonar. Este interés se ve confirmado por los numerosos estudios publicados al respecto^{51, 52, 53, 54, 55, 47, 56, 57, 58, 59, 43}, ya que toda mejoría clínica después de la aplicación del broncodilatador supone un mayor componente de broncoespasmo en la obstrucción bronquial.

Considerando la fisiopatología de la obstrucción de la vía aérea en la bronquiolitis, a un nivel puramente teórico la aplicación del broncodilatador no sería beneficiosa en los lactantes con bronquiolitis⁴⁶, debido a que se debe en muy pequeña medida a broncoespasmo y en gran parte a la inflamación, al edema y a las secreciones^{163, 47}. Nicolai¹⁹ da un paso más en esta teoría argumentando que la respuesta aparentemente paradójica, de empeoramiento del distrés respiratorio, observada en el lactante con bronquiolitis después de la aplicación del broncodilatador, es debida al efecto sobre el tono del músculo bronquial, que al disminuir, contribuiría a la reducción del calibre de la pequeña vía aérea.

En los lactantes durante la bronquiolitis, la aplicación de salbutamol nebulizado provoca un deterioro que se manifiesta principalmente por la hipoxemia, causada por la alteración ventilación/perfusión sobre el pulmón y un empeoramiento clínico

con aumento del distrés respiratorio. A pesar de que, de hecho, hay receptores beta-adrenérgicos en sus vías aéreas, no se consigue un mejoramiento con su uso ⁵⁶. La acción del salbutamol parece ser máxima a los 5 minutos, persistiendo a los 20 minutos de su administración ⁴⁷.

Otros estudios, sin embargo, sugieren que el broncodilatador podría resultar beneficioso. Klassen ²¹ y Schuh ¹⁶⁴ comparan los efectos del salbutamol nebulizado con placebo y observan que hay una significativa mejoría en el puntuación clínica después de la aplicación del broncodilatador.

Con respecto a otros adrenérgicos, Lowell ¹⁵⁹ aprecia mejoría clínica tras la administración de adrenalina subcutánea a lactantes con sibilancias. Sin embargo, el criterio aplicado para la selección de estos pacientes no fue el de bronquiolitis, sino sibilancias en niños de hasta 24 meses de edad. Recientemente Sánchez y cols. ⁶⁰ publicaron el resultado de un estudio que comparaba el efecto del salbutamol y la adrenalina, utilizando un puntuación clínica y pruebas de función pulmonar antes y después del uso del broncodilatador en lactantes con bronquiolitis. Entre sus resultados encontraron que la adrenalina fue más efectiva que el salbutamol para el tratamiento de la bronquiolitis. Estos resultados, muy probablemente, se deben a su doble efecto α y β adrenérgico, el primero de los cuales contribuye de forma importante a la reducción del edema y la secreción de moco. En cualquier caso ninguno de estos estudios ha mostrado que el tratamiento con estas drogas pueda disminuir el tiempo de hospitalización de estos pacientes.

El grupo de niños de bronquiolitis, que formaba parte de nuestro estudio tuvo tras la aplicación del salbutamol una respuesta de deterioro de la puntuación clínica, en 2,2 puntos como media con respecto al basal. Los valores basales fueron de 6,4 puntos y los observados tras broncodilatador de 8,6. Este empeoramiento fue

estadísticamente significativo.

Con respecto a los distintos componentes de la tabla de valoración de la puntuación clínica, la mayoría de ellos sufrieron modificación. En relación a las sibilancias, en muchos de los casos se objetivó un aumento en el número de campos pulmonares afectados, así como de su intensidad. Paralelamente al aumento de las sibilancias, se observó un aumento de los subcrepitantes y demás ruidos húmedos, después de la aplicación del broncodilatador. En algún caso se produjo un cambio de sibilancias a subcrepitantes. Los crepitantes no reciben puntuación en la presente escala de puntuación clínica, por lo que pensamos que ésta puntuación podría no reflejar fielmente el deterioro real, dado que la obstrucción bronquial en la bronquiolitis es debida sobre todo al aumento de las secreciones y al edema, que se manifiesta en la auscultación de subcrepitantes.

Sería de gran interés el estudio semiológico de los cambios en la auscultación pulmonar después de la aplicación del broncodilatador. En las últimas décadas, gracias a los avances en instrumentación biomédica, diversos grupos de investigación clínica y de ingeniería han profundizado en el análisis de los sonidos respiratorios mediante técnicas de procesado digital ¹⁶⁵.

Otro de los componentes que forma parte de la puntuación clínica, es la utilización de la musculatura accesoria. Después de la aplicación del salbutamol aumentó, en líneas generales, la intensidad de las retracciones existentes antes de la administración del broncodilatador, objetivándose, así mismo, un cambio en la localización de los campos pulmonares afectos.

Con respecto a la frecuencia respiratoria se observó que aumentaba después de la aplicación del broncodilatador, muy probablemente como efecto farmacológico

colateral del salbutamol, debido principalmente a la actividad β_1 adrenérgica, que da lugar a taquicardia refleja y a vasodilatación.

En relación con la disparidad de resultados obtenidos en los diferentes trabajos que publica la literatura médica más reciente acerca de la respuesta al broncodilatador en los lactantes con bronquiolitis, las principales razones se podrían explicar de la siguiente manera:

En primer lugar los grupos de pacientes seleccionados en los diferentes estudios no son, en general, homogéneos. La mayoría de los trabajos mezclan lactantes con un primer episodio de sibilancias junto con otros con sibilancias de repetición. Es sabido que la patogenia de la bronquiolitis, entendida como primer episodio de sibilancias causadas por una infección vírica, se debe principalmente a alteraciones a nivel bronquiolar de inflamación con edema y aumento de la secreción de moco que se acumula en la luz bronquial. Junto a lo cual podemos encontrar un incierto grado de broncoespasmo. En contraste, en los lactantes con episodios repetidos de sibilancias, se puede encontrar un considerable grado de broncoespasmo, con una variable afectación del epitelio respiratorio y aumento del número de células inflamatorias, tales como linfocitos, eosinófilos con sus mediadores inflamatorios y ECP¹⁵. Muchos de los estudios, que observan mejoría después del broncodilatador, se realizan en niños mayores de 24 meses con episodios repetidos de sibilancias. En ellos sí podría resultar beneficiosa la utilización del broncodilatador por la contribución del broncoespasmo a la fisiopatología de su obstrucción bronquial⁴⁹,

157

En segundo lugar, la gran disparidad en la respuesta al broncodilatador de los diferentes estudios publicados, podría ser atribuida a las distintas drogas utilizadas en cada caso. Las más frecuentemente empleadas fueron los anticolinérgicos como

el bromuro de ipratropio por vía inhalatoria ^{19, 46}, la epinefrina subcutánea, con efecto alfa y beta adrenérgico ^{60, 50}, el metaproterenol inhalado, con su importante y selectivo efecto beta adrenérgico que actúa en el músculo liso bronquial ⁴⁵, y el salbutamol inhalado, con efecto beta-2 adrenérgicos ^{21, 28}.

En tercer lugar otro factor que afecta al grado de respuesta obtenida tras el broncodilatador es el tiempo transcurrido entre su aplicación y la determinación de la respuesta clínica o la realización de pruebas de función pulmonar. En la mayoría de los trabajos publicados no encontramos uniformidad. Unos miden el efecto del broncodilatador a los 5 minutos ¹⁶⁶, otros a los 10 minutos ^{45, 54}, a los 15 minutos ¹⁵⁹, a los 20 minutos ⁵², a los 30 y a los 60 minutos ²¹ y otros lo determinan hasta transcurridas 24 horas ⁴⁶. Una determinación demasiado rápida después de la administración del broncodilatador, podría mostrar los efectos de una respuesta de hiperreactividad bronquial como resultado de la inhalación de la droga. A menudo, a lo largo de la nebulización va aumentando la osmolaridad por la evaporación de agua, que es menos intensa en nebulizaciones cortas con volúmenes pequeños ^{166, 47}. En el caso del salbutamol, la elevada osmolaridad de la dilución con suero fisiológico y su acidez podría ser la causa de la respuesta aparentemente paradójica, soluciones hiper o hipoosmolares provocan hiperreactividad bronquial.

V. 1. 4. Oximetría

La medición de la saturación de oxígeno se realizó antes de la aplicación de salbutamol, con el lactante ya sedado y sin aporte adicional de oxígeno. Y después de 20 minutos de la inhalación del salbutamol. En el caso de la administración del salbutamol nebulizado con oxígeno, se mantuvo el lactante respirando aire ambiente, durante un periodo de 20 minutos después. La validez de nuestros

resultados podría ser cuestionada por el efecto de la sedación con hidrato de cloral. Algunos trabajos han demostrado que el consumo de oxígeno y la producción de anhídrido carbónico es sólo levemente más alto en los lactantes bajo la sedación con hidrato de cloral ⁴⁷.

Los valores de la saturación de oxígeno basal y la obtenida tras la aplicación del broncodilatador del trabajo realizado por nosotros fue de 88,4% y 86,4% respectivamente, y son muy similares a los comunicados por Prendiville en lactantes durante el episodio agudo de bronquiolitis ⁴⁷, que encuentra valores de saturación de O₂ antes y después del broncodilatador de 87% y 85%, en sus lactantes la medición de la saturación de O₂ fue realizada, también, bajo sedación con hidrato de cloral.

Los valores de la saturación de oxígeno obtenidos después de la aplicación del broncodilatador, sufrieron una caída con respecto a los valores basales, aunque la diferencia encontrada en nuestro estudio no fue estadísticamente significativa, probablemente debido al escaso número de niños.

Los valores de la saturación de O₂ obtenidos por pulsioximetría se pueden considerar muy próximos a los valores directos en sangre arterial ¹⁵².

V. 1. 5. Pruebas de función pulmonar

En el grupo de niños con bronquiolitis encontramos un patrón bronquial obstructivo con valores de función pulmonar deteriorada. La función pulmonar de estos lactantes, podría estar ser normal previamente a la bronquiolitis o estar alterada desde el nacimiento.

En el primer supuesto, la alteración de la función pulmonar se produciría por una lesión directa del virus sobre la pared bronquial originando una inflamación favorecida quizá por una respuesta de hipersensibilidad, en aquellos lactantes con predisposición genética a la hiperproducción de IgE. Además si entre las células inflamatorias juega algún papel el eosinófilo encontraríamos niveles elevados de ECP. En estos niños se podría ir deteriorando la función pulmonar, por la respuesta inflamatoria a diferentes estímulos. Presentarían episodios repetidos de sibilancias y dificultad respiratoria después de la bronquiolitis probablemente por la respuesta inflamatoria debida al eosinófilo, mastocito y a otras células inflamatorias, su función pulmonar se mantendría alterada. Este grupo de niños se identificarían con los asmáticos.

En el segundo caso la respuesta inflamatoria sería transitoria. Pasado algún tiempo después de la bronquiolitis la función pulmonar volvería a la normalidad. No tendrían tendencia a la hipersensibilidad ni a perpetuar una respuesta inflamatoria debida al eosinófilo ni a otras células, por lo que su función pulmonar iría mejorando en poco tiempo y no presentarían tendencia a las sibilancias de repetición.

En el supuesto de que hubiera una disminución del calibre bronquial ya desde el nacimiento, previa a la bronquiolitis, estos niños con peor función pulmonar serían seleccionados por el virus dando lugar a los síntomas de la bronquiolitis. Transcurrido el episodio agudo, se mantendría una disminución fija del calibre bronquial que se reflejaría en una función pulmonar alterada. Las siguientes infecciones víricas desencadenarían nuevos episodios de sibilancias durante los primeros años de vida.

a) Valores de $V_{\max\text{FRC}}$

Para el estudio de la función espiratoria se analizaron las curvas flujo volumen generadas con la técnica de “espiración parcial forzada con chaquetilla neumática” estudiando el $V_{\max\text{FRC}}$. Con esta técnica obtenemos una valiosa información de la vía aérea intratorácica, aunque cualquier curva flujo-volumen de espiración forzada aporta información de toda la vía aérea, el parámetro más utilizado de esta técnica, $V_{\max\text{FRC}}$, que analiza el flujo a volúmenes pulmonares bajos, determina la obstrucción de la vía aérea periférica, con calibre menor de 2 mm de diámetro.

Contamos con numerosos estudios que apoyan su utilización en el lactante^{13,14,144, 145, 147, 148, 151, 82 y 167} y avalan con sus resultados la disminución del flujo espiratorio obtenido por esta técnica en los lactantes con obstrucción bronquial como por ejemplo la fibrosis quística, broncodisplasia y lactantes con sibilancias de repetición.

Los valores de referencia de $V_{\max\text{FRC}}$ previstos para lactantes normales utilizados en nuestro trabajo fueron los del único estudio realizado en nuestro país en una serie de 55 lactantes, publicado por Martínez A¹⁵⁵. Estudios americanos¹⁴⁷ han publicado valores de $V_{\max\text{FRC}}$ en varias series realizadas en lactantes sanos menores de 18 meses.

Nuestro estudio seleccionó como valor de $V_{\max\text{FRC}}$ el mejor valor de todos los obtenidos, en cada lactante. Otros autores toman el valor de $V_{\max\text{FRC}}$ del resultado de la media de los 3 mejores valores de cada estudio, pero esta práctica no es general, y pensamos que el mejor valor de flujo obtenido da un valor objetivo de la vía aérea, al igual que en la espirometría convencional.

Para la realización de la maniobra de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”, fue necesario tener en cuenta algunas cuestiones de índole práctica:

1° Siguiendo los protocolos previamente utilizados para la realización de esta técnica por Silverman ¹⁴⁴, Tepper ⁴⁵ y Hanrahan ¹⁴⁷, LeSouëf ¹⁵⁰ el tiempo utilizado para el llenado de la chaquetilla y la compresión toraco-abdominal fue de 1 sg. Este es el tiempo recomendado en el estudio de lactantes con sibilancias.

2° En cuanto a la presión de llenado de la chaquetilla, se comenzó el inflado por presiones bajas: 35-40 cm de H₂O en la primera maniobra, aumentando en las siguientes de 10 a 15 cm de H₂O. La presión óptima es aquella que al ser superada no lleva consigo un aumento del V_{maxFRC} . No es posible saber cual va a ser la presión ideal para cada lactante. En ningún caso se superó la presión de 100 cm de H₂O como presión de llenado de la chaquetilla. La presión óptima para cada niño ¹⁴⁸, fue mayor en los lactantes menos afectados, quienes tuvieron mayores V_{maxFRC} y toleraron presiones mayores de llenado de la chaquetilla. En algunos de los lactantes más afectados encontramos una tan importante disminución del flujo aéreo espiratorio que durante la realización de la maniobra no fue posible aplicar presiones de llenado de la chaquetilla por encima de 30 o 40 cm de H₂O porque a partir de esa presión se observó una tendencia a la caída de V_{maxFRC} que interrumpía el flujo espiratorio antes de alcanzar el nivel de FRC. Este es uno de los problemas más frecuentemente encontrados por aquellos que realizan estudios de función pulmonar en lactantes con la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” ^{144, 145}.

3° Se evitó, además, que el lactante hubiera tomado alimento de 30 a 60 minutos antes de la realización de la prueba de función pulmonar entre otras razones por la inestabilidad de la FRC en ese periodo postprandial y por la posibilidad de inducir

el vómito o el reflujo gastroesofágico con la manipulación de la compresión tóraco-abdominal.

4° Para la obtención de curvas válidas, fue necesario vigilar la posición del cuello durante la realización de la prueba, para conseguir un correcto paso de aire a través de la faringe y laringe y así obtener un adecuado flujo espiratorio; con cierta frecuencia se producen curvas cuyo patrón hace imposible su examen como por ejemplo un cierre reflejo de la glotis, figura 21, el comienzo precoz de la maniobra de espiración forzada figura 22 o una respiración irregular debido sobre todo a las secreciones nasofaríngeas y de la vía aérea más central: grandes bronquios y tráquea.

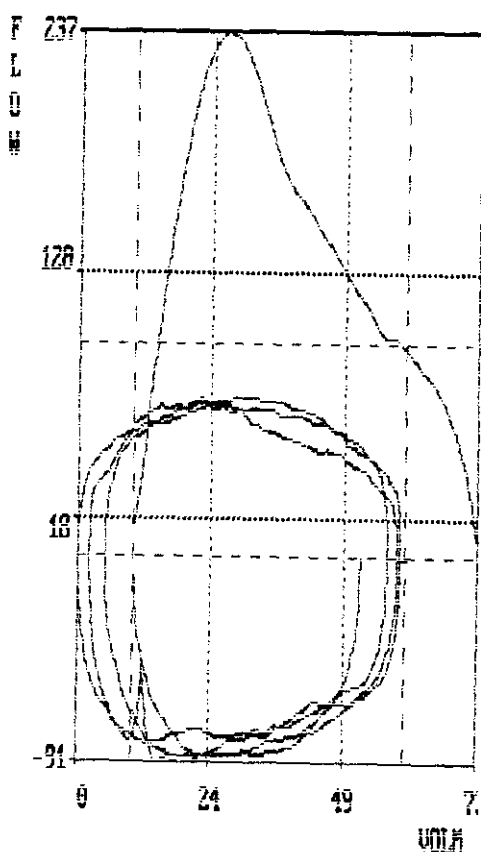


Figura 21. Curva flujo-volumen correspondiente a la maniobra de "espiración parcial forzada con chaquetilla neumática" no válida por comienzo precoz de la espiración forzada

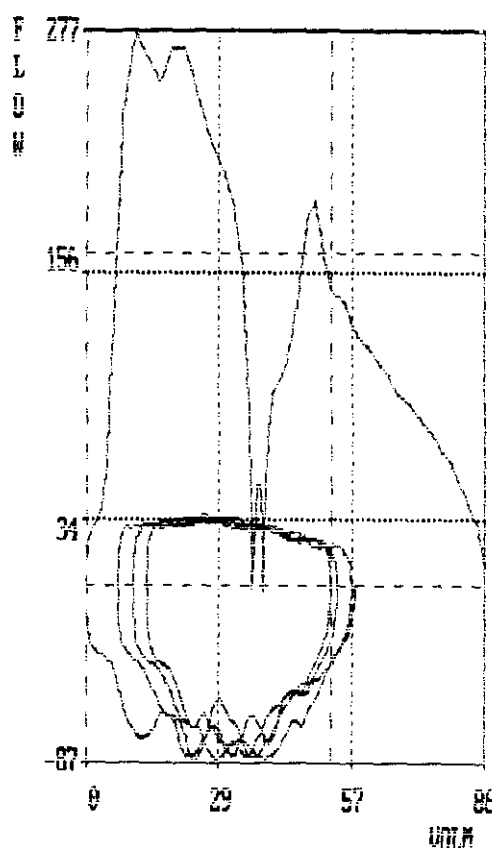


Figura 22. Curva flujo-volumen correspondiente a la maniobra de "espiración parcial forzada con chaquetilla neumática" no válida por interrupción brusca del flujo espiratorio debido a cierre reflejo de glotis.

El sistema informatizado que se utilizó rechaza de forma automática las curvas que no cumplen las condiciones de análisis. Como ejemplo de curva flujo-volumen válida mostramos la de la figura 23.

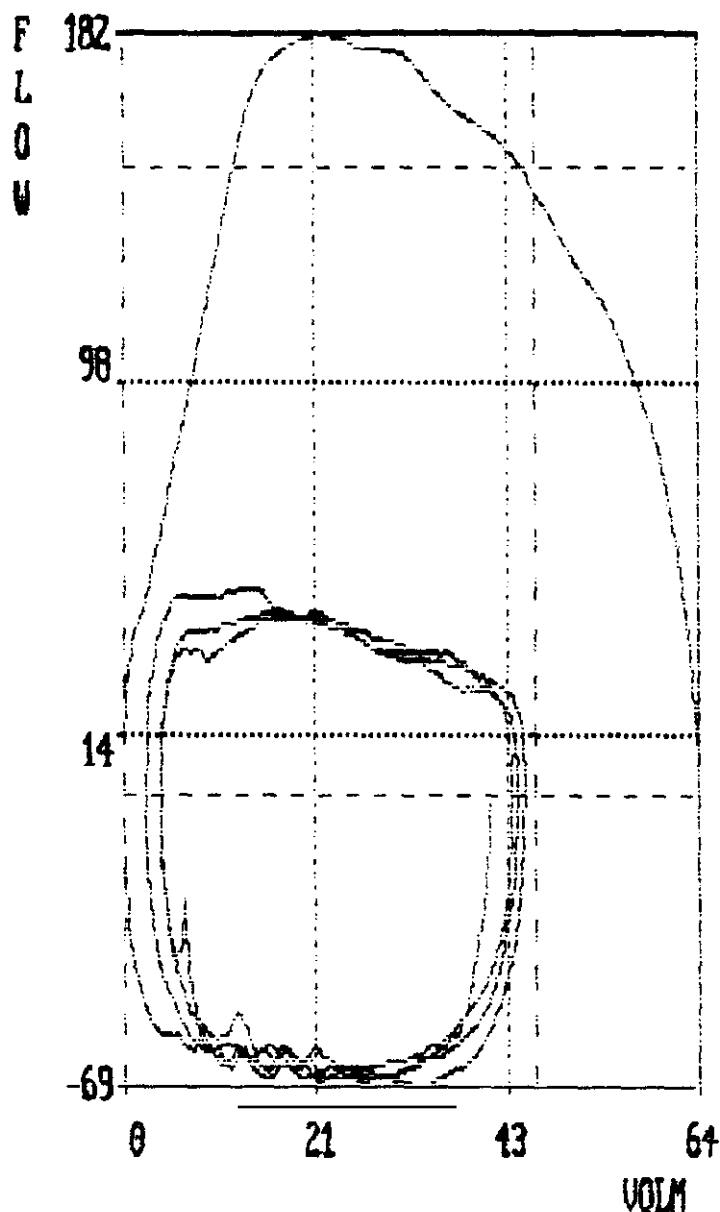


Figura 23. Curva válida de flujo-volumen correspondiente a la maniobra de "expiración parcial forzada con chaquetilla neumática" para la obtención de V_{maxFRC} . Pueden observarse: 1º Escasa variación entre las tres asas de las respiraciones a volumen tidal, previas a la maniobra. 2º Comienzo de la expiración forzada cercano al comienzo de la expiración a volumen tidal y pico de flujo máximo antes de la mitad del volumen tidal. 3º Final de la expiración forzada a menor volumen que FRC. 4º Ausencia de interrupción del flujo espiratorio.

Hay algunas controversias en torno a la metodología de la realización de esta técnica y a la interpretación fisiopatológica de las curvas. Con respecto al flujo obtenido con la maniobra podría sufrir modificación dependiendo de la presión aplicada a la pared del tórax, ya que presiones excesivas tienden a provocar curvas más convexas y consecuentemente una reducción del $V_{\max\text{FRC}}$ ¹⁴⁵. Para obviar este problema se utiliza la presión óptima como máxima presión aplicada, que al ser superada no lleva consigo aumento del $V_{\max\text{FRC}}$, sino una disminución del flujo espiratorio.

Con respecto a la presión aplicada desde la chaquetilla, no toda se transmite al espacio intrapleurar a través de la pared torácica¹⁵⁰. El porcentaje de presión transmitida se podría determinar usando la presión esofágica, que es la misma que la presión intrapleurar, aunque es una técnica invasiva y su uso no debe ser rutinario.

. $V_{\max\text{FRC}}$ basal

La importante disminución de los valores espirométricos $V_{\max\text{FRC}}$, % del previsto, obtenido en todos los niños del estudio menos uno, por la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” refleja fielmente la limitación al flujo aéreo de la bronquiolitis. El punto de corte de normalidad lo situamos en 60% del valor previsto, valor que nos pareció aceptable para una prueba funcional de estas características.

Esta importante disminución del flujo aéreo se pudo objetivar tanto a través de los valores numéricos como en la forma de las curvas, observándose una concavidad muy pronunciada en la rama descendente de la curva flujo/volumen con expiración forzada que casi se superpone con la curva expiratoria espontánea. Los diferentes estudios publicados al respecto muestran valores similares en la limitación al flujo

espiratorio^{151, 168, 51, 47, 56}

. V_{max}FRC tras broncodilatador

Todo aumento en el flujo espiratorio obtenido después de la aplicación del broncodilatador, supone una participación del músculo liso bronquial en la obstrucción de la vía aérea. Una de las características que define el asma, aunque no la única, es su respuesta de broncodilatación tras la aplicación de fármacos con capacidad broncodilatadora. En nuestro intento de buscar un nexo de unión entre la bronquiolitis y el asma, hemos querido determinar la respuesta de V_{max}FRC tras el salbutamol inhalado, así como desde el punto de vista práctico evaluar su utilidad en la aplicación a lactantes con bronquiolitis.

En una mayoría de los estudios realizados en lactantes con sibilancias en los que se encuentra mejoría tras la aplicación del broncodilatador, se utilizaron puntuaciones clínicas para su valoración^{45, 46, 47, 28, 48, 49, 50 y 68}. Sin embargo, desde fechas recientes, los estudios realizados de función pulmonar han encontrado resultados diferentes, objetivándose deterioro de las curvas con empeoramiento de los flujos espiratorios^{51, 55, 47, 56, 52, 53, 54, 57, 58, 59 y 44}.

En los lactantes con una gran obstrucción la presión límite tolerada en la maniobra de espiración forzada, realizada tras la administración del broncodilatador, fue menor de la que pudimos aplicar antes del salbutamol. Nuestro estudio observó que los flujos espiratorios están claramente más alterados que los basales. Una de las posibles explicaciones de la respuesta paradójica de V_{max}FRC, con caída de los flujos después del broncodilatador, podría ser que la obstrucción bronquial en las primeras etapas de la vida tiene características diferentes que en etapas posteriores y por ello en la mayoría de los lactantes, la obstrucción de la vía aérea se debe en muy

pequeña medida a broncoespasmo^{163, 47}. Por este motivo después de la aplicación del broncodilatador se produce una caída del tono del músculo bronquial, que contribuiría a la reducción del calibre de la pequeña vía aérea¹⁹. Además la movilización de secreciones en el interior de la vía aérea, contribuye a un aumento de la obstrucción al flujo aéreo en las vías de mayor calibre.

La acción del salbutamol tuvo en nuestro estudio un efecto claramente adverso en la mayoría de los lactantes. Esto a su vez nos indica la presencia de receptores $\beta 2$ -adrenérgicos funcionantes en su vía aérea⁵⁶.

Por todo lo anteriormente expuesto, es fácil comprender que la realización de la maniobra de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática” es laboriosa, por lo que en ocasiones no es posible completar la exploración a algún lactante. En nuestro estudio la prueba no se acabó en 4 lactantes, debido a que tras la aplicación del salbutamol, 3 de ellos se despertaron de la sedación antes de los 20 minutos necesarios para la nueva medición de $V_{\max FRC}$ y en otro no se pudo obtener el flujo espiratorio en FRC porque el flujo correspondiente a la capacidad funcional residual FRC fue nulo debido a la importante obstrucción de su vía aérea, incluso con presiones aplicadas con la chaquetilla muy bajas, y siendo una de las condiciones de validez de la prueba y obtención de $V_{\max FRC}$, que la curva finaliza superado el volumen de FRC, al no cumplirse esta debió ser rechazada.

11 lactantes experimentaron una caída de $V_{\max FRC}$ después del broncodilatador $>30\%$ y tan sólo uno tuvo una mejoría de $V_{\max FRC} >30\%$. El cambio de $V_{\max FRC}$ después del broncodilatador en el resto de los niños no se consideró pues tuvo una variación menor del 30%.

b) Valores de la distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs})

Los valores obtenidos en nuestro estudio para la distensibilidad en el episodio agudo de bronquiolitis con la técnica de “oclusión única teleinspiratoria” se encontraron claramente disminuidos con respecto a los valores de normalidad para C_{rs} ^{13, 14}. Esto probablemente sea debido a la inflamación de la vía aérea causada por el edema y la hipersecreción bronquial que da lugar a la obstrucción al flujo aéreo y por consiguiente al atrapamiento aéreo. Todo ello favorece una disminución de la distensibilidad pulmonar.

c) Valores de la resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs})

En cuanto a los valores de la resistencia total del sistema respiratorio, obtenida por la misma técnica que la distensibilidad de “oclusión única teleinspiratoria”, los resultados del presente estudio ofrecieron valores normales. Estos resultados nos inducen a pensar que, dado que la resistencia de la vía aérea debería estar aumentada en la obstrucción bronquial, ésta no sea una prueba muy sensible para el tipo de alteración de los lactantes con bronquiolitis.

En el momento actual no contamos con suficientes trabajos en los que se determinen las propiedades mecánicas del sistema respiratorio de lactantes normales^{13, 14, 53} y se hace necesario contar con un mayor número de estudios para valorar que tipo de pruebas serían necesarias para valorar que tipo de pruebas serán necesarias para determinar la resistencia de las vías aéreas periféricas.

V. 1. 6. ECP en el episodio agudo

Para determinar si la ECP juega un papel similar en la bronquiolitis al que juega en el asma se estudiaron sus concentraciones en el suero de los lactantes durante la bronquiolitis.

No han sido definidos los valores normales de ECP para el grupo de edad de lactantes. Tampoco se conoce de manera completa el tipo de células inflamatorias ni de mediadores liberados durante la bronquiolitis por VRS, aunque sí se sabe que hay liberación de histamina, lo que implica participación del mastocito y aumento de IgE-VRS en las secreciones nasofaríngeas durante la bronquiolitis VRS^{1, 80, 84, 132}. Los niveles de ambos mediadores determinan el grado de afectación durante y la evolución clínica después de la bronquiolitis.

Para poder contar con una referencia de los valores de ECP en suero de lactantes normales, realizamos una búsqueda bibliográfica entre los estudios publicados con lactantes utilizados como grupo control. El realizado por Lodrup Carlsen en 1995¹³¹ utiliza una serie de 38 lactantes con antecedentes familiares de atopia como grupo control, obteniendo en ellos niveles de ECP en suero de 14 mcg/L. Otra serie de Zimmerman⁵, utiliza como grupo control 7 niños con edad media de 2 años y 7 meses con historia de reacción adversa al huevo, sin síntomas de asma, con ECP sérica de 13,4 mcg/L. Aunque la fiabilidad de ambas series para ser consideradas como grupos controles es dudosa, no hay otros publicados en lactantes normales por lo que en nuestro estudio utilizamos como valor de referencia de normalidad el dado por *Pharmacia* (laboratorio farmacéutico que comercializó el reactivo), que como se recordará es de 20 mcg/L.

En cuanto a estudios realizados en lactantes con sibilancias de repetición el estudio

de Lodrup Carlsen antes citado ¹³¹, encuentra valores de ECP en suero de 21,9 mcg/L en 41 niños de 14 meses de edad como media, con al menos 2 episodios de sibilancias o 4 semanas de sibilancias persistentes, que son significativamente mayores que los hallados en su grupo control.

La ECP liberada en las secreciones del tracto respiratorio de los lactantes con infección por VRS se mostró más elevada en aquellos con infección por VRS y clínica de bronquiolitis: 166,8 mcg/L, que la de los lactantes que sólo padecieron afectación de la vía aérea superior sin sibilancias: 43,5 mcg/L ¹³². En el estudio llevado a cabo por Reijonen y cols ¹³⁶ se confirman los mismos resultados encontrando niveles significativamente más altos en aspirado nasofaríngeo: 531 mcg/L durante la fase aguda de la bronquiolitis en aquellos lactantes que presentaron sibilancias después de superado el episodio agudo, frente a 299 mcg/L en los lactantes que tuvieron buena evolución y no presentaron las sibilancias. Encontrando este mismo grupo ¹³³ valor predictivo de la ECP en el desarrollo de sibilancias posteriores en 92 lactantes con bronquiolitis grave. Concluyendo que los niveles de ECP en suero durante la fase aguda de la bronquiolitis aunque son específicos son poco sensibles para determinar el grado de inflamación bronquial y predecir las sibilancias después de la bronquiolitis.

El resultado de ECP en suero obtenido en nuestro estudio durante el episodio agudo de bronquiolitis estuvo en el límite alto de la normalidad, $20,1 \pm 16$ mcg/L. Este valor es superior al referido en el estudio de Lodrup Carlsen para los lactantes del grupo control: 14 mcg/L y el de Zimmerman: 13,4 mcg/L.

Se hicieron dos subgrupos de lactantes: uno con valores superiores y otro con valores inferiores a 20 mcg/L.

V. 1. 7. Relación de los valores de la puntuación clínica y la saturación de O₂ con las pruebas de función pulmonar: V_{maxFRC}

Resulta lógico esperar que los resultados obtenidos en las pruebas de función pulmonar estarán bien correlacionados con el grado de afectación clínica en los lactantes con bronquiolitis.

Se encontró una diferencia, estadísticamente significativa, entre los valores de V_{maxFRC}, % del previsto, correspondientes a los lactantes con puntuación clínica mayor de 7 y los del grupo correspondiente a puntuación clínica menor de 7 antes de la aplicación del salbutamol. No se encontró, sin embargo, diferencia estadísticamente significativa para los mismos grupos después de la aplicación del salbutamol.

Para valorar si al cambio clínico obtenido después de la aplicación del salbutamol le siguió un cambio en la función pulmonar: V_{maxFRC}, se relacionaron ambos valores: el de la puntuación clínica y el de V_{maxFRC}. Se consideró como único cambio clínicamente significativo aquel con empeoramiento o mejoría $\geq \pm 4$ puntos¹⁵⁹, con la finalidad de depurar aquellos cuyo cambio es mínimo y no se puede considerar clínicamente.

Encontramos un cambio paralelo de la puntuación clínica y V_{maxFRC} después de la aplicación del broncodilatador aunque no fue estadísticamente significativa.

Con respecto a los valores de la saturación de O₂ el presente estudio encontró, también, una diferencia, aunque no estadísticamente significativa, entre el V_{maxFRC} correspondiente a los lactantes con valores de saturación de O₂ $\leq 90\%$ y el V_{maxFRC} de los lactantes con saturación de O₂ $>90\%$. Esta falta de significación estadística

probablemente se debió a que el número de niños en los que se pudo medir la saturación de O₂ fue insuficiente.

V. 1. 8. Relación de los valores de V_{maxFRC} con los valores de ECP

No encontró una relación estadísticamente significativa entre los niveles elevados de ECP y el mayor deterioro de las pruebas de función pulmonar basal ni en su respuesta al broncodilatador en los lactantes durante el episodio agudo de bronquiolitis.

En los numerosos estudios publicados en enfermos con asma acerca de los valores de ECP y las pruebas de función pulmonar, se ha encontrado una íntima relación inversamente proporcional entre ambos, a mayores niveles de ECP, tanto en suero como en secreciones, menores valores de FEV1^{5, 12, 7, 8, 95, 78 y 141}. Estudios de anatomía patológica encuentran una relación directa entre los mayores depósitos de ECP intraepitelial, con el aumento de la hiperreactividad bronquial^{95, 121, 11}, que reflejan el grado de inflamación bronquial. En esos mismos trabajos se observa una disminución de los valores de ECP después de la utilización de tratamiento antiinflamatorio con budesonida en enfermos con asma. La reducción de los valores de ECP es mayor cuando el tratamiento con corticoides se aplica en el asma alérgico.

Con respecto a los trabajos publicados hasta ahora no hay ningún estudio que valore la relación entre los niveles de ECP en suero y las pruebas de función pulmonar en los lactantes con bronquiolitis en la fase aguda ni en su evolución. En cuanto a los valores de ECP en niños menores de 2 años con episodios de sibilancias de repetición, se ha demostrado¹³¹ una buena correlación entre niveles elevados de

ECP y una respuesta broncodilatadora del flujo espiratorio a volumen tidal después de la aplicación del salbutamol, durante el episodio de sibilancias, pero estos datos no se pueden aplicar a lactantes con bronquiolitis al no tratarse de primer episodio de sibilancias en el contexto de una viriasis respiratoria.

V. 1. 9. Relación de los valores de la puntuación clínica y saturación de O₂ con los valores de ECP

No hemos podido encontrar una relación estadísticamente significativa entre los valores de ECP sérica y la afectación clínica traducida en la puntuación clínica y la saturación de O₂ tanto basales como tras broncodilatador durante la fase aguda de bronquiolitis. Con ello podemos suponer que el eosinófilo no juega ningún papel como célula inflamatoria en la bronquiolitis, considerada como primer episodio de sibilancias acaecida en lactantes en el marco de una infección respiratoria causada por virus, a diferencia de lo que ocurre en el asma que sí encuentra una buena correlación entre la clínica y los niveles de ECP, que traduce el grado de inflamación eosinofílica.

V. 2. PACIENTES ESTUDIADOS AL AÑO DEL EPISODIO AGUDO DE BRONQUIOLITIS

El grupo estuvo formado por los niños que habían padecido bronquiolitis.

Se realizaron revisiones a lo largo del primer año, una vez que hubieron superado la fase aguda de bronquiolitis. El motivo de que el grupo sea de menor tamaño: 24 lactantes que el grupo de la bronquiolitis en la fase aguda: 35 lactantes, se debe a

que algunos niños no se presentaron a las revisiones.

V. 2. 1. Evolución clínica al año del episodio agudo de bronquiolitis

Aunque una parte importante de los lactantes que han padecido bronquiolitis tienen sibilancias, coincidiendo con infecciones respiratorias víricas, la relación exacta de la bronquiolitis con el asma no está clara. Uno de los propósitos del presente estudio es encontrar que grupo de lactantes con bronquiolitis evolucionará con episodios repetidos de sibilancias como respuesta a diferentes estímulos y si hay algún marcador que *a priori* puede identificarlos

Desde hace varios años está siendo muy debatido el posible papel de la infección respiratoria causada por virus en el comienzo del asma ¹⁶⁹ y ⁷⁰, por la hiperreactividad bronquial que queda en algunos de los lactantes después de la bronquiolitis ¹⁶⁷. Por el momento la única forma de distinguir que lactantes van a pertenecer al grupo de los que presenten sibilancias y cuales no, es la evolución clínica. En la mayoría de los lactantes se observará una tendencia a la transitoriedad de las sibilancias. Pero un pequeño grupo de estos lactantes que han padecido bronquiolitis mantendrá las sibilancias durante algunos años.

En la evolución clínica inmediata, durante el primer año que siguió a la fase aguda de bronquiolitis, pudimos distinguir dos grupos entre los lactantes de nuestro estudio: los que habían tenido dos o más crisis y los que tuvieron menos de dos, repartiéndose casi igual número de lactantes en cada uno de ellos. En su mayoría estas crisis se distribuyeron coincidiendo con las épocas de epidemia de viriasis respiratorias, en los 4 meses siguientes a la bronquiolitis y de los 6 a los 12 meses, encontrando una tendencia a la disminución del número de crisis al mes durante el

primer año. Un estudio realizado en Nottingham ⁶⁸ para valorar la evolución posterior en 55 lactantes que habían padecido bronquiolitis, observó que el 75 % tuvo algún episodio de sibilancias durante los dos años posteriores y de ellos sólo el 36% tuvo dos o más de dos episodios de sibilancias en dicho periodo de tiempo.

V. 2. 2. Evolución de la Función Pulmonar en el primer año

Durante los primeros doce meses de la bronquiolitis no se llegó a encontrar una normalización total de los parámetros de función pulmonar que miden la función espiratoria: flujo espiratorio: $V_{\max FRC}$, que estaba claramente deteriorada en la bronquiolitis. Con relación a las propiedades mecánicas: distensibilidad y resistencia, se encuentran valores normales a los 4 meses de la bronquiolitis, que en la fase aguda de la bronquiolitis estaban alterados, para la distensibilidad. En el caso de la resistencia se mantuvieron normales en la bronquiolitis y durante el año posterior.

El grupo estadounidense de Martínez FD ha publicado diferentes trabajos sobre el papel de la función pulmonar del lactante como factor de riesgo para el desarrollo de sibilancias ^{81, 82 y 83}, observando en varios trabajos, que la función pulmonar inicial, era determinante en el desarrollo posterior de sibilancias. Estos hallazgos se pueden hacer extensivos a la evolución posterior de los lactantes con bronquiolitis, cuya función pulmonar está claramente deteriorada.

Por su parte Tepper RS ¹⁶⁷ y Young S y ¹⁵¹ han demostrado una mayor hiperreactividad bronquial en lactantes después de la bronquiolitis, por medio de la medida de $V_{\max FRC}$ si los comparamos con los controles sanos.

a) Evolución de V_{maxFRC}

Las determinaciones de V_{maxFRC} , % del previsto, durante el primer año después de haber padecido la bronquiolitis, nos permitieron valorar, la mejoría de la función espiratoria pulmonar después de superado clínicamente el episodio agudo de bronquiolitis y establecer una relación entre sus valores y los correspondientes a la evolución clínica, en cuanto al número de crisis, y los niveles de ECP en suero.

. V_{maxFRC} basal

El flujo espiratorio máximo a nivel de la capacidad funcional residual, V_{maxFRC} , % del previsto, basal obtenido a los 4, 6 y 12 meses de la bronquiolitis, aunque mejoró durante el año posterior a la bronquiolitis, no llegó a normalizarse.

A los 4 meses de la bronquiolitis, objetivamos que el valor medio de V_{maxFRC} , fue de más del 50% del valor previsto, lo que supuso un aumento casi del doble del obtenido durante la fase aguda, que fue tan sólo del 30%.

La mejoría del valor de V_{maxFRC} , llegó hasta casi el 60% de los valores previstos, a los 6 meses de superado el episodio agudo de bronquiolitis. Este hecho podría tener relación con el momento en el que se realizó el estudio que coincidió con la época en la que las viriasis respiratorias son menos frecuentes y podría, por tanto, contribuir a que la vía aérea de los niños sufriera en menor medida la agresión de los virus respiratorios de las epidemias de otoño-invierno.

En la última revisión, ya pasados 12 meses de la bronquiolitis, se mantuvieron valores de V_{maxFRC} en cifras muy similares a las encontradas a los 6 meses, que fueron del 60% del valor previsto, no apreciándose la tendencia a la mejoría, que se

había dado a los 4 meses. Una de las explicaciones podría ser, la misma que la de los 6 meses pero a la inversa, que esta última revisión se realizó en una época epidémica de infecciones respiratorias pudiéndose provocar obstrucción bronquial en este tipo de lactantes o bien que definitivamente la función pulmonar de estos lactantes va a mantener una obstrucción bronquial fija.

Con los resultados de este estudio se pone de manifiesto que la función pulmonar de los lactantes que han padecido bronquiolitis no es normal, y es quizá éste el motivo de su mayor tendencia a las sibilancias inducidas por infecciones respiratorias.

Uno de los principales interrogantes sigue siendo si la función pulmonar de los lactantes previa a la bronquiolitis era normal, y la causa del deterioro fue la afectación del virus respiratorio que, a partir de ese momento, dejaría como secuela una alteración de la función pulmonar y una hiperreactividad bronquial duradera, durante varios años después de la bronquiolitis. O si, por el contrario, como muestran otros grupos^{81, 82 y 83}, la función pulmonar estaba previamente alterada. En este último supuesto, transcurrida la bronquiolitis, se mantendría una disminución fija de la función pulmonar provocando nuevos episodios de sibilancias durante los primeros años de la vida. A partir de, aproximadamente, los 3 años de edad, debido al crecimiento del calibre bronquial, disminuirían de manera importante las sibilancias.

Los resultados de nuestro estudio serían compatibles con ambas hipótesis, por que únicamente valoramos la función pulmonar durante y después de la bronquiolitis, y no tenemos datos de la función pulmonar antes de la bronquiolitis.

. Variabilidad de V_{maxFRC} tras broncodilatador durante al primer año del episodio agudo de bronquiolitis

Los resultados obtenidos muestran que el deterioro de V_{maxFRC} después del broncodilatador, que habíamos observado en la fase aguda, disminuye a medida que van pasando los meses desde el episodio de bronquiolitis. La diferencia entre los valores obtenidos en la fase aguda y los obtenidos a los 4, 6, y 12 meses, son estadísticamente significativos.

A los 4 meses de la bronquiolitis se mantenía un cierto deterioro en el V_{maxFRC} obtenido tras el broncodilatador, que fue casi significativo con respecto a los valores basales, al igual que ocurría en la fase aguda de la bronquiolitis, aunque en menor medida. Sin embargo, a los 6 y 12 meses del episodio agudo de bronquiolitis no hay cambio de los valores de V_{maxFRC} tras la aplicación del broncodilatador con respecto a los valores basales.

Se determinó la variabilidad después de la aplicación del broncodilatador de los dos grupos de lactantes: los que tenían una V_{maxFRC} basal, $>$ y $<$ de 60% del valor previsto, no encontrando diferencia entre ambos.

Se estudiaron los valores del cambio de V_{maxFRC} tras el broncodilatador clínicamente significativo, $+ 30\%$ o -30% , encontrando diferencia significativa a los 6 meses entre los valores de los que mejoran más de 30% y los que empeoran más de 30% tras broncodilatador y ninguna diferencia entre los valores obtenidos a los 4 y 12 meses. No hubo diferencia entre los valores basales de V_{maxFRC} correspondientes a estos dos grupos.

b) Evolución de la distensibilidad total del sistema respiratorio (C_{rs})

En cuanto al estudio de la distensibilidad total del sistema respiratorio durante el primer año después de la bronquiolitis, el deterioro que habíamos encontrado en la fase aguda de la bronquiolitis se recupera a los 4 meses de superada, manteniéndose normal a partir de ese momento. Las diferencias encontradas entre los valores de la fase aguda y los hallados a lo largo del primer año son estadísticamente significativas entre parejas: fase aguda-4 meses; fase aguda-6 meses; y fase aguda-12 meses con un grado de significación $p=0,00003$ para las dos primeras y $p=0,00004$ para la última.

Un estudio realizado por Martínez A en lactantes que habían padecido bronquiolitis de 2 a 5 meses antes, observó que la distensibilidad aumentaba de $0,59 \pm 21$ a $0,96 \pm 14$ ml/cmH₂O Kg a los 2-5 meses de superada la bronquiolitis¹⁶⁴.

c) Evolución de la resistencia total del sistema respiratorio (R_{rs})

En cuanto a los valores de la resistencia obtenidos a los 4, 6 y 12 meses de la fase aguda hubo una disminución, estadísticamente significativa de la resistencia a los 4 meses de superado el episodio agudo de la bronquiolitis, que no se modificó más adelante a los 6 y 12 meses. Aunque encontramos mejoría de los valores de la resistencia, a los 4 meses de la bronquiolitis, los valores obtenidos en los lactantes durante la bronquiolitis no se separaron de los valores normales¹⁶⁴.

El mismo estudio¹⁶⁴ realizado con la técnica de “oclusión única teleinspiratoria” para obtener la distensibilidad en lactantes que habían padecido bronquiolitis, obtuvo un descenso de los valores de la resistencia de $63,5 \pm 21$ en la bronquiolitis a $59,4 \pm 17$ cmH₂O L. s., 2 a 5 meses después, que no fue estadísticamente

significativo.

V. 2. 3. Valores de ECP durante al primer año del episodio agudo de bronquiolitis.

Dado que la ECP es el principal marcador de actividad del eosinófilo, y valores elevados de dicha proteína reflejan de manera muy eficaz la inflamación bronquial, se valoraron los niveles de ECP en la fase aguda y durante el primer año de evolución de la bronquiolitis, ante la posibilidad de que después de la bronquiolitis se pusiera en marcha un mecanismo fisiopatológico que, por una vía aún no conocida, comenzara la activación del eosinófilo y aumentara la producción de ECP en suero y secreciones respiratorias en algunos lactantes, dando lugar a un deterioro bronquial que se reflejara en la función pulmonar.

Durante el primer año que siguió a la bronquiolitis nuestro estudio encontró una discreta tendencia al aumento de los valores de ECP que fue de 6 puntos a los 4 meses de la bronquiolitis y que se mantuvieron constantes a lo largo del primer año. Este aumento con respecto a los valores obtenidos en la fase aguda de la bronquiolitis no fue significativo.

Hemos encontrado pocos estudios realizados para valorar la ECP tanto sérica como en secreciones en niños pequeños con episodios de sibilancias^{131, 171, 172, 173, 174 y 175}.

Alguno de ellos ha mostrado un aumento de los niveles de ECP después de un episodio agudo de bronquiolitis^{131, 172, 174, 175}.

V. 2. 4. Relación de $V_{\max\text{FRC}}$ con la evolución clínica

Para averiguar si la evolución de la función pulmonar, $V_{\max\text{FRC}}$ basal y su variabilidad tras broncodilatador después de la bronquiolitis, tenía alguna relación con la evolución clínica, en cuanto al número de crisis padecidas durante el primer año después de la bronquiolitis, se compararon las funciones pulmonares de los grupos con dos o más crisis, y con menos de dos crisis.

Los valores de $V_{\max\text{FRC}}$ basal a los 12 meses de evolución de la bronquiolitis, en el grupo de lactantes con dos o más crisis, fueron menores que los del grupo que había tenido una o ninguna crisis, con una diferencia estadísticamente significativa entre ambos.

Hasta los 12 meses de evolución de la bronquiolitis no se encontró una alteración de los valores de $V_{\max\text{FRC}}$ basal en los lactantes con mayor número de crisis. Este mismo grupo a los 4 y 6 meses no había tenido alterada su función espiratoria $V_{\max\text{FRC}}$ más que los que del grupo de menos de dos crisis.

Podríamos deducir, a la vista de estos resultados, que los valores disminuidos de la función pulmonar a los 12 meses de la bronquiolitis en el grupo de más de dos crisis, son la respuesta del deterioro progresivo sufrido por la vía aérea con cada una de las crisis padecidas. Este hecho iría en contra de la teoría de la función pulmonar previa disminuida, por que, en este supuesto, la función pulmonar de este grupo, de más de dos crisis, estaría alterada durante todos los momentos evolutivos porque se trataría de una disminución fija, ya previa a la bronquiolitis.

Este subgrupo de lactantes en el que se ha encontrado una función pulmonar alterada y un mayor número de crisis de sibilancias ¿se podría decir que comienzan

a padecer asma?. ¿ Podría ser beneficioso identificar a este grupo de lactantes realizando una función pulmonar al año del episodio agudo de bronquiolitis, para evitar por medio de un tratamiento antiinflamatorio un mayor deterioro de su función pulmonar?.

En cuanto al cambio de $V_{\max FRC}$ después del broncodilatador obtenido a los 12 meses de la bronquiolitis no se encontró diferencia entre ambos grupos de menos de dos crisis y de dos o más crisis.

Con respecto a las mismas determinaciones realizadas a los 4 y 6 meses después de la bronquiolitis no se encontró ninguna diferencia en los valores de $V_{\max FRC}$ basales entre los dos grupos de mejor y peor evolución, ni en su cambio después del broncodilatador.

V. 2. 5. Relación de los valores de ECP y $V_{\max FRC}$

En el estudio realizado por nosotros no encontramos más deteriorada la función pulmonar, $V_{\max FRC}$, % del previsto, basal ni su respuesta al broncodilatador al año de la bronquiolitis, en aquellos que tenían la ECP > 20 mcg/L y ≤ 20 mcg/L en ese mismo momento evolutivo.

Uno de los escasos estudios realizados en lactantes con sibilancias para valorar los niveles de ECP y la función pulmonar ha sido llevado a cabo por Lodrup Carlsen 9-FP, en lactantes con al menos dos episodios de sibilancias o cuatro semanas de sibilantes persistentes, determinando los niveles de ECP en suero y la función pulmonar: curvas flujo/volumen a volumen tidal, encontrando que los lactantes con sibilantes de repetición tienen niveles más elevados de ECP que los controles.

Aunque este estudio se realizó en lactantes con sibilantes de repetición, sin detallar si su primer episodio de sibilancias había consistido en una bronquiolitis.

V. 2. 6. Relación de los valores de ECP con la evolución clínica

Se agruparon a los lactantes con bronquiolitis según sus valores de ECP en la fase aguda, relacionando estos valores con la evolución clínica durante el primer año. No se encontró ninguna relación entre niveles elevados de ECP y mala evolución clínica de dos o más crisis al año

Tampoco se encontró ninguna relación entre los valores de ECP elevada durante el primer año posterior a la bronquiolitis y la evolución clínica en cuanto al número de crisis durante el primer año.

V. 3. NUEVAS PERSPECTIVAS A PARTIR DE ESTE ESTUDIO

Los resultados de este trabajo, podrían abrir una puerta a futuras investigaciones en la línea de los marcadores pronósticos de los lactantes con obstrucción bronquial.

En primer lugar sería de interés contar con valores de ECP en suero y fluidos de lactantes sanos. En la actualidad, no hay estudios al respecto debido a que es aún reciente la comercialización del reactivo que lo determina. Así mismo sería interesante obtener series mayores de lactantes con diferentes patologías respiratorias, homogéneamente agrupadas, para valorar su ECP en suero y en fluidos.

En segundo lugar, a investigar la correlación de ECP sérica y ECP en orina, que facilitaría y haría aún más extensiva la aplicación de esta determinación en la población infantil.

En tercer lugar, a estudiar la función pulmonar de los niños que han padecido bronquiolitis en su evolución a lo largo del tiempo a corto y largo plazo y buscar su correlación con la clínica. Buscar alguna prueba de función pulmonar de más sencilla aplicación, en concreto para valorar la función espiratoria, que se pueda realizar, a ser posible, con el niño respirando de forma espontánea, a volumen tidal.

En cuarto lugar, a estudiar la hiperreactividad bronquial de los lactantes tras la fase aguda de bronquiolitis.

En quinto lugar sería de interés realizar estudios amplios de la función pulmonar de los padres de los lactantes que padecen bronquiolitis, y así valorar un posible condicionante genético.

En sexto lugar, a determinar a través de la medida de la función pulmonar qué grado de afectación sufren los bronquios al contacto con tóxicos como puede ser el humo del tabaco.

En séptimo lugar, a buscar la correlación entre los valores de ECP y las pruebas de función pulmonar a lo largo de las distintas etapas evolutivas de la bronquiolitis: en la evolución posterior más allá del primer año.

En octavo lugar, a estudiar los efectos de los diferentes fármacos como los broncodilatadores y corticoides inhalados en los lactantes y cuales son los niños que se pueden beneficiar de su uso.

En noveno lugar, a buscar otros marcadores celulares de la inflamación en la bronquiolitis, además de la ECP.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. La puntuación clínica para el distrés respiratorio en la fase aguda de la bronquiolitis empeora después de la aplicación del salbutamol inhalado. Este cambio es estadísticamente significativo con respecto a los valores basales.
2. La saturación de oxígeno en la fase aguda de la bronquiolitis empeora después de la aplicación del salbutamol inhalado, aunque este deterioro no es estadísticamente significativo.
3. La variable de función pulmonar V_{maxFRC} , que mide el flujo máximo en la capacidad funcional residual con la técnica de “expiración parcial forzada con chaquetilla neumática”, tiene unos valores muy disminuidos en los lactantes en la fase aguda de bronquiolitis. Sus valores empeoran después de la aplicación de salbutamol inhalado de forma estadísticamente significativa.
4. Los valores correspondientes a la distensibilidad total del sistema respiratorio están alterados en la fase aguda de la bronquiolitis y se normalizan totalmente a los 4 meses de superado el episodio agudo.
5. Los valores de la resistencia del sistema respiratorio no se alteran en la fase aguda de la bronquiolitis.
6. Los valores de la Proteína Catiónica del Eosinófilo sérica en el episodio agudo de bronquiolitis se encuentran dentro de límites normales. Considerando normales valores menores de 20 mcg/L en suero.

7. La puntuación clínica en la fase aguda de bronquiolitis guarda una relación estadísticamente significativa con los valores de Función Pulmonar: V_{maxFRC} tanto basal como después de la aplicación del salbutamol inhalado.
8. Los valores de la Proteína Catiónica del Eosinófilo en el episodio agudo de bronquiolitis no se correlacionan con el grado de afectación clínica ni con las pruebas de función pulmonar durante la bronquiolitis.
9. Los valores de la Proteína Catiónica del Eosinófilo obtenidos en el episodio agudo de bronquiolitis no predicen la evolución clínica, ni la de la función pulmonar en el primer año después del episodio agudo de bronquiolitis.
10. Los valores de V_{maxFRC} a los 4 meses del episodio agudo de bronquiolitis, aumentan con respecto a los de la fase aguda de forma estadísticamente significativa. Estos valores no llegan a normalizarse al año de la bronquiolitis, manteniéndose muy cercanos a los obtenidos a los 4 meses de la bronquiolitis.
11. El V_{maxFRC} de los lactantes que tuvieron más de dos episodios de sibilancias al año del episodio agudo de bronquilitis está más deteriorado que el de aquéllos que tuvieron menos de dos episodios. Este deterioro es estadísticamente significativo.
12. Los valores de la Proteína Catiónica del Eosinófilo al año del episodio agudo de bronquiolitis no se correlacionan con los de V_{maxFRC} obtenidos en el mismo momento evolutivo.
13. La Proteína Catiónica del Eosinófilo al año del episodio agudo de bronquiolitis no se correlaciona con el número de episodios de sibilancias en el primer año después de la bronquiolitis.

VII. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Welliver RC, Sun M, Rinaldo D, Ogra PL. Predictive value of respiratory syncytial virus-specific IgE responses for recurrent wheezing following bronchiolitis. *J Pediatr* 1986; 109: 776-80.
- 2.- Welliver RC, Kaul A, Ogra PL. Cell-mediated immune response to respiratory syncytial virul infection: Relationship to the development of reactive airway disease. *J Pediatr* 1979; Vol. 94, N°3: 370-5.
- 3.- Carlson M, Hakansson L, Kämpe M, Stalenheim G, Peterson C. Degranulation of eosinophils from pollen-atopic patients with asthma is increased during pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 131-9.
- 4.- Gleich GJ, Flavahan NA, Fujisawa T, Vanhoutte PM. The eosinophil as a mediator fo damage to respiratory epithelium: A model for bronchial hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* May 1988; 776-81.
- 5.- Zimmerman B. Clinical experience with the measurement of ECP: usefulness in the management of children with asthma. *Clin Exp Allergy* 1993; Vol. 23 Supl. 2: 1-5.
- 6.- Hedlin G, Ahlstedt S, Enander Y, Hakansson L, Venge P. Eosinophil cationic protein (ECP), eosinophil chemotactic activity (ECA), neutrophil chemotactic activity (NCA) and tryptase in serum before and during bronchial challenge in cat-allergic children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 1992; 3 144-149.

- 7.- Zimmerman B, Enander Y, Zimmerman R. S. , Ahlstedt S. Asthma in children less than 5 years of age: atopy, eosinophils and serum eosinophil proteins (ECP AND EPX) in relation to treatment with inhaled steroid. Pharmacia Diagnostyc Uppsala (Sweden). Sunday Aug 30th 1992. P0 260.
- 8.- Ahlstedt S, Zimmerman B. In vitro monitoring with ECP of the outcome of asthma therapy. Pharmacia Diagnostyc Uppsala (Sweden). Sunday Aug 30th 1992. P0 261.
- 9.- Cichocka-Jarosz E, Lis G, Pietrzyk J.J. Blood-eosinophils and eosinophilic cationic protein (ECP) in children with asthma and hay fever. Pharmacia Diagnostyc Uppsala (Sweden). Sunday Aug 30th 1992. P0 262.
- 10.- Venge P. Soluble markers of allergic inflammation. Allergy 1983; Dec: 55-78.
- 11.- Bousquet J, Chanaz P, Lacoste JY, Barneon Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-La Fontaine J, Godard P, Michel FB. Eosinophil inflammation in asthma. New Engl J Med 1990; 323: 1033-9.
- 12.- M. Zimmerman B , Lanner, I Enander, Zimmerman R S. Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein eosinophil protein X in childhood asthma : relation to disease status and therapy. Clin and Exp Allergy 1993; Vol.23; 564-570.
- 13.- Allen JL, Bar-Yishay E, Bryan AC, Budd J, Castile RG. Respiratory mechanics in infants: Physiologic evaluation in health and disease. Eur Respir J 1993; 6: 279-310.

- 14.- Zach M, Carlsen KH, Warner JO, Sennhauser FH. New diagnostic techniques in pediatric respiratory medicine. European Respiratory Monograph (5) 1997.
- 15.- Martínez-Gimeno A, López-Silvarrey A, Medina A, Estudio de la función Pulmonar: pruebas especiales. Monografías de Pediatría 1993; (85): 32-49.
- 16.- Wohl MEB, Chernick V. Bronchiolitis. Am Rev Respir Dis 1978; Vol. 118: 759-81.
- 17.- Wohl MEB. Bronchiolitis. En Chernick V, Kendig EL. Disorders of the respiratory tract in children. Philadelphia: Saunders Company. 1990: 360-371.
- 18.- Toms G.L. Respiratory syncytial virus: Virology, diagnosis, and vaccination. Lung 1990; Suppl: 388-95.
- 19.- Nicolai T, Pohl A. Acute Viral bronchiolitis in infancy: Epidemiology and management. Lung 1990; Suppl: 396-405.
- 20.- Snell NJC. Economic and long-term benefits of ribavirin therapy on respiratory syncytial virus infection. Lung 1990; Suppl: 422-29.
- 21.- Klassen T.P., Rowe P.C., Sutcliffe T., Ropp L.P., McDowell IW, MM. Randomized trial of salbutamol un acute bronchiolitis. J Pediatr 1991; 118: 807-11.
- 22.- Henderson FW, Clyde WA, Collier AM, Denny FW, Senior RJ, Sheaffer CI, Conley WG, Christian RM. The etiologic and epidemiologic spectrum of bronchiolitis in pediatric practice. J Pediatr 1979; Vol. 95, N°2: 183-90.

- 23.- Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson R, Kjellman B, Bjorksten B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995 Apr; 95 (4): 500-5.
- 24.- Lemen RJ. Respiratory syncytial virus and bronchiolitis. *Acta Pediatr Sin* 1995 Mar-Apr; 36 (2): 78-85.
- 25.- Tirado R, Sarmiento RE, Bustos J, Thompson O, Gomez B. Occurrence of respiratory syncytial virus subtypes in Mexican infant with acute lower respiratory tract disease. *Arch Med Res* 1995 Summer; 26 (2): 121-6.
- 26.- Chowdhury D, Al-Howasi M, Khalil M, Al-Frayh AS, Chowdhury S, Ramia S. The role of bronchodilators in the management of bronchiolitis: a clinical trial. *Ann Trop Pediatr* 1995; 15 (1): 77-84.
- 27.- Sardet A. Bronchiolitis and bronchodilators. *Med Mal Infect* 1993; Nov: 880-2.
- 28.- Schuh S, Johnson D, Canny G, Reisman J, Shields M, Kovesi T, Kerem E, Bentur L, Levison H, Jaffe D. Efficacy of adding nebulized ipratropium bromide to nebulized albuterol therapy in acute bronchiolitis. *Pediatrics* 1992; 90/6: 920-3.
- 29.- Henderson FW, Collier AM, Clyde WA Jr, Denny FW. Respiratory-syncytial-virus infections, reinfections and immunity. *N Engl J Med* 1979; 300: 530-4.
- 30.- Hall CB, Douglas RG Jr. Modes of transmissions of respiratory syncytial virus. *J Pediatr* 1981 ;Vol .99 N°1: 100-3.
- 31.- Friis B, Andersen P, Brenoe E, Hornsleth A, Jensen A, Knudsen FU,

Krasilnikoff PA, Mordhorst CH, Nielsen S, Uldall P. Arch Dis Child 1984; 59: 1038-45.

32.- Geoffrey T. Respiratory syncytial Virus. Virus & Life January 1994; 2-6

33.- Villa Asensi JR, Medina A, Martínez Gimeno A. Monitorización de los gases sanguíneos en Monografías de Pediatría 1993; (85): 50-1.

34.- Nadal D, Ogra PL. Development of local immunity: role in mechanisms of protection against or pathogenesis of respiratory syncytial viral infections. Lung 1990; Suppl: 379-387.

35.- Fishaut M, Tubergen D, McIntosh K. Cellular response to respiratory viruses with particular reference to children with disorders of cell-mediated immunity. J Pediatr 1990; Vol. 96. N°2: 179-86.

36.- Welliver RC, Wong DT, Sun M, McCarthy N. Parainfluenza virus bronchiolitis. Am J Dis Child 1986; Vol. 140: 4-40.

37.- Smith JM. Epidemiología e historia natural del asma, la rinitis y la dermatitis atópica, en Alergia principios y práctica Middleton E, Reed CE, Salvat ed. 1985 832-86.

38.- Roitt I, Brostoff J, Male D Hipersensibilidad tipo I: 21.1-21.10 en Inmunología Salvat ed 1991.

39.- Dang Bui RH, Molinaro GA, Kettering JD, Heiner DC, Imagawa DT, St Geme JW Jr. Virus-specific IgE and IgG4 in serum of children infected with respiratory syncytial virus. J Pediatr 1987; Vol. 110, N°1: 87-90

- 40.- Everard ML, Fox G, Walls AF, Quint D, Fifield R, Walters C, Swarbrick A, Milner AD. Tryptase and IgE concentrations in the respiratory tract of infants with acute bronchiolitis. *Arch Dis Child*. 1995 Jan; 72 (1): 64-9
- 41.- Pullan C, Hey ; EN. Wheezing asthma and pulmonary dysfunction 10 years after infection with respiratory syncytial virus in infancy. *Br Med J* 1982; Vol. 284 : 1665-9.
- 42.- Newcom RW. Use of adrenergic bronchodilators by pediatric allergists and pulmonologists. *Am J Dis Child* 1989 Apr; 143 (4): 481-5. *Pediatr Pulmonol* 1989;6 (4):253-9.
- 43.- Kisson N. Bronchodilator therapy in wheezy infants: A comentary. *Pediatric Emerg Care* 1993; Vol.9, N°2: 121-2.
- 44.- Ramsay LE, Sears MR, Lowdell M, Bottazzo, GF, Rothenberg LS, Goodman BT, Chambers TL. Bronchodilators for bronchiolitis? *Lancet* 1993; Vol. 341: 1380.
- 45.- Tepper RS, Rosenberg D, Eigen H, Resiter T. Bronchodilator responsiveness in infants with bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1994; 17: 81-5.
- 46.- Wang EEL, Milner R, Allen U, Maj H. Bronchodilators for treatment of mild bronchiolitis: a factorial randomised trial. *Arch Dis Child* 1992; 67: 289-93.
- 47.- Prendiville A, Rose A, Maxell DL, Silverman M. Hypoxaemia in wheezy infants after bronchodilator treatment. *Arch Dis Child* 1987; 62: 997-1000.
- 48.- Soto ME, Sly PD, Uren E, Taussig LM, Landau LI. Bronchodilator response

during acute viral bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol* 1985 Mar-Apr. 1 (2) : 85-90.

49.- Alario AJ, Lewander WJ, Dennehy P, Seifer R, Mansell AL, The efficacy of nebulized metaproterenol in wheezing infants and young children. *AJDC* 1992; 146: 412-15.

50.- Bentur L, Kerem E, Canny G, Reisman J, Schuh S, Stein R. Response of acute asthma to a beta₂ agonist in children less than two years of age. *Ann Allergy* 1990; 65: 122-6.

51.- Sly PD, Lanteri CJ, Raven JM. Do wheezy recovering from bronchiolitis respond to inhaled salbutamol? *Pediatr Pulmonol* 1991; 10: 36-9.

52.- Stokes GM, Milner AD, Hokges IGC, Henry RL, Elphick MC. Nebulised therapy in acute severe bronchiolitis in infancy. *Arch Dis Child* 1983; 58: 279-83.

53.- Lenney W, Milner AD. Alpha and beta adrenergic stimulants in bronchiolitis and wheezy bronchitis in children under 18 months of age. *Arch Dis Child* 1978; 53: 707-9.

54.- Lenney W, Milner AD. At what age do bronchodilator drugs work? *Arch Dis Child* 1978; 53: 532-35.

55.- Spier S, Lapierre JG, Lamarre A. Response to salbutamol during a first or second episode of wheezing in infancy. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: A 259.

56.- Prendiville A, Green S, Silverman M. Paradoxical response to nebulised

salbutamol in wheezy infants, assessed by partial expiratory flow-volume curves. *Thorax* 1987; 42: 86-91.

57.- Mallory GB Jr., Motoyama EK, Koumbourlis AC, Mutich RL, Nakayama DK. Bronchial reactivity in infants in acute respiratory failure with viral bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1989; 6 (4):253-9.

58.- Hugues DM, LeSouëf PN, Landau LI, Effect of salbutamol on respiratory mechanics in bronchiolitis. *Pediatr Res* 1987; 22: 83-6.

59.- Kraemer R, Frey U, Sommer CW, Russi E. Short term of albuterol, delivered via a new auxiliary device, in weezy infants. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 347-51.

60.- Sanchez I, De Koster J, Powell R, Wolstein R, Chernick V. Effect of racemic epinephrine and salbutamol on clinical score and pulmonary mechanics in infants with bronchiolitis. *J Pediatr* 1993; 122: 145-51.

61.- Reijonen T, Korppi M, Pitkakangas S, Tenhola S, Remes K. The clinical efficacy of nebulized racemic epinephrine and albuterol in acute bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995 Jun; 149 (6): 686-92.

62.- Sung RY, Chan RC, Tam JS, Cheng AF, Murray HG. Epidemiology and aetiology of acute bronchiolitis in Hong Kong. *Epidemiol Infect* 1992 Feb; 108 (1): 147-54.

63.- Rooney JC, Williams HE. The relationship between proved viral bronchiolitis and subsequent wheezing. *J Pediatr* 1971; Vol. 79, N°5: 744-7.

- 64.- Leer JA Jr, Green JL, Heimlich EM, Hyde JS, Moffet HL, Young GA, Barron BA. Corticosteroid treatment in bronchiolitis. *Am J Dis Child* 1969; Vol. 117: 495-503.
- 65.- Roosevelt G, Sheehan K, Grupp-Phelam J, Tanz RR, Listernick R. Dexamethasone in bronchiolitis: a randomised controlled trial. *Lancet* 1996 Aug 3; 348 (9023): 279-81.
- 66.- Knight V, Gilbert BE. Aerosol treatment of respiratory viral disease. *Lung* 1990; Suppl: 406-13.
- 67.- Gottschalk J, Zbinden R, Keampff L, Heinzer I. Discrimination of respiratory syncytial virus subgroups A and B by reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 1996 Jan; 34 (1): 41-3.
- 68.- Simoes EA, Groothuis JR, Tristram DA, Allesi K, Lehr MV, Siber GR, Welliver RC. Respiratory syncytial virus-enriched globulin for the prevention of acute otitis media in high risk children. *J Pediatr* 1996 Aug; 129 (2): 214-9.
- 69.- Henry RL, Hokges IGC, Milner AD, Stokes GM. Respiratory problems 2 years after acute bronchiolitis in infancy. *Arch Dis Child* 1983; 58: 713-16.
- 70.- Gurwitz D, Mindorff C, Levison H. Increased incidence of bronchial reactivity in children with history of bronchiolitis. *J Pediatr* 198; Vol. 98 N°4: 551-5.
- 71.- Martínez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med* 1995 Jan; 332 (3): 181-2.

- 72.- Duff AL, Pomeranz, ES, Gelber LE, Price GW, Farris H, Hayden FG, Platts-Mill TAE, Heymann PW. Risk factors for acute wheezing in infants and children: viruses, passive smoke, and IgE antibodies to inhalant allergens. *Pediatrics* 1993; 92: 535-40.
- 73.- Seidemberg J, Von Der Hardt H. Acute bronchial obstruction in infancy. Therapeutic concepts. *Monatsschr Kinderheilkd* 1990 Sep; 138 (9): 584-90.
- 74.- Lewandowski K. Zimmerman B, Lanner A, Enander I, Peterson C. Serum eosinophil proteins measured in childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol* 1991 Sep; 122 (3): 354-57.
- 75.- Schauer L. Eckhart A, Müller R, Gerns D. Enhanced Leukotriene C4 Production by peripheral eosinophilic granulocytes from children with asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 90: 201-206.
- 76.- De Klopogge Leeuw Anna J., De Monchy Jan G.R., Kauffman Henk F. Cellular communication in Leukotriene C4 Production between eosinophils and neutrophils. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 90: 20-23.
- 77.- Yamada Takashi, Mishima T, Ishizaki M, Shida T, Iikura Y. Ultrastructural analysis of peripheral eosinophils in children with bronchial hyperresponsiveness. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1994; 104 (suppl 1): 2-5.
- 78.- Tomassini M, Magrini L, Pettillo G, Adriani E, Bonini S. Serum levels of eosinophil cationic protein in allergic diseases and natural allergen exposure. *J Allergy- Clin- Immunol* 1996 Jun; 97(6): 1350-5.

- 79.- Kristjansson S, Strannegard IL, Strannegard O, Petreson C, Ennander I, Wennergren G. Urinary eosinophil protein X in children with atopic asthma : a useful marker of antiinflammatory treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1996 Jun; 97(6) : 1179-87.
- 80.- Weltzin R, Traina-Dorge V, Soike K, Zhang LI, Mack P, Soman G, Drabik G, Monath TP. Intranasal monoclonal IgA antibody to respiratory tract infection. *J Infect Dis* 1996 Aug; 174 (2): 256-61.
- 81.- Welliver LC, Duffy L. The relationship of RSV-specific immunoglobulin E antibody responses in infancy, recurrent wheezing, and pulmonary function at age 7-8 years. *Pediatr Pulmonol* 1993 Jan; 15 (1): 19-27.
- 82.- Morgan WJ, Martinez FD. Factores de riesgo para la aparición de sibilancias y asma durante la niñez. *Clínicas Pediátricas de Norteamérica*. Ed Interamericana I-1992: 1279-97.
- 83.- Martínez FD, Morgan WJ, Wright AL, Holberg C, Taussig LM. Initial airway function is a risk factor for recurrent wheezing respiratory illnesses during the first three years of life. *Am Rev Respir Dis* 1991 Feb; 143 (2): 312-6.
- 84.- Martínez FD, Morgan WJ, Wright AL, Holberg CJ, Taussig LM. Diminished lung function as a predisposing factor for wheezing respiratory illness in infants. *N Engl J Med* 1988 Oct; 319 (17): 1112-7
- 85.- Welliver RC, Wong DT, Sun M, Middleton E, Vaughan RS, Ogra PL. *New Engl J Med* 1981; Vol. 30 N°15: 841-6.

- 86.- Martinati LC, Trabetti E, casartelli A, Boner AI, Pignatti PF. Affected sib-pair and mutation analyses of the high affinity IgE receptor beta chain locus in Italian families with atopic asthmatic children. *Am-J- Respir-Crit-Care-Med.* 1996 May; 153 (5): 1682-5.
- 87.- Doull Ij, Lawrence S, Watson M, Begishvili T, Beasley RW, Lampe F. Allelic association of gene markers on chromosomes 5q and 11q with atopy and bronchial hyperresponsiveness. *Am-J-Respir-Crit-Care-Med.* 1996 Apr; 153 (4 Pt 1): 1280-4.
- 88.- Bleecker-ER, Amelung PJ, Levitt RC, Postma DS, Meyers DA. Evidence for linkage of total serum IgE and bronchial hyperresponsiveness to chromosome 5q: a major regulatory locus important in asthma. *Clin-Exp-Allergy.* 1995 Nov; 25 Suppl. 2: 4-8; discussion 95-6.
- 89.- Van-Herwerden-L, Harrap SB, Wong ZY, Abramson MJ, Kutin JJ, Forbes AB. Linkage of high-affinity IgE receptor gene with bronchial hyperreactivity, even in absence of atopy (see comments). *Lancet.* 1995 Nov 11; 346 (8985): 1262-5.
- 90.- Sandford-AJ, Moffatt MF, Daniels SE, Nakamura Y, Lathrop GM, Hopkin JM. A genetic map of chromosome 11q, including the atopy locus. *Eur-J-Hum-Genet.* 1995; 3 (3): 188-94.
- 91.- International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma. *Allergy*, 1992; 47 (suppl. 13): 1-61.
- 92.- International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma. 1997 (Segundo Panel de Expertos en el Manejo del Asma de la Academia Americana de Asma, Alergia e Inmumnología).

- 93.- Jeffery PK. Histological Features of the airways in asthma and COPD. *Respiration* 1992; 59 (Suppl. 1): 414-21.
- 94.- Bousquet J, Pascal Ch, Campbell AM, Lacoste JY, Poston R, Enander I, Godard P. Inflammatory Processes in asthma. *Int Arch Allerg Immunol* 1991; 94 : 227-232.
- 95.- Kroegel C, Virchow JC, Luttman W, Walker C, Warner JA. Pulmonary Immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part I). *Eur Respir J*, 1994, 7, 519-543; series Pulmonary immune cells.
- 96.- Ahlstedt Staffan. Aplicaciones clínicas de la proteína catiónica eosinofílica en el asma. *Allergy Proceedings*, Vol. IX N° 5- Septiembre-Octubre 1995: 5-8.
- 97.- Askenase PW. Mecanismos efectores y reguladores en la hipersensibilidad de tipo retardado, en *Alergia principios y práctica* Middleton E, Reed Ce, Salvat de. 1985: 234-60.
- 98.- Slifman NR, Adolphson CR, Gleich GJ. Eosinófilos: aspectos bioquímicos y celulares, en *Alergia Principios y práctica* Middleton E, Reed CE, Salvat de. 1985: 169-94.
- 99.- Venge P, Lars E, Olson R and Inge. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein. *British Journal of Haematology*, 1977, 37: 331-335.
- 100.- Karawaiczky M, Pauksen K, peterson CG, Eklund E, Venge P. The differential release of eosinophil granule proteins, studies on patiens with acute bacterial and viral infections. *Clinical and experimental Allergy* 1995; Vol. 25: 713-

719.

101.- Capron Monique, Tomassini M, Torpier G, Kusnierz JP, MacDonald S. Selectivity of mediators released by eosinophils. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 88: 54-58.

102.- Peterson-CG, Jornvall-H, Venge-P. Purification and characterization of eosinophil cationic protein from normal human eosinophils. *Eur-J-Haematol*. 1988 May; 40 (5): 415-23.

103.- Czech-W, Krutmann J, Schopf E, Kapp A. Serum eosinophil cationic protein (ECP) is a sensitive measure for disease activity in atopic dermatitis. *Br-J-Dermatol*. 1991 Apr; 126(4): 351-5.

104.- Abu-Ghazaleh RI, Dunnette SL, Loegering DA, Checkel JL, Kita H, Thomas LL, Gleich GJ. Eosinophil granule proteins in peripheral blood granulocytes. *J-Leukoc-Biol*. 1992 Dec; 52 (6): 611-8.

105.- Venge Per, Dahl Ronald, Peterson Crister G.B. Eosinophil granule in proteins in serum after allergen challenge of asthmatic patiens and the effects of anti-asthmatic medication. *Int Arch Allergy Apply Immunol* 1988; 87: 306-312.

106.- Krug N, Thureau AM, Lackie P, Baier J, Schulze-Werninghaus, G, Rieger CHL, Schauer, U. A flow cytometric method for the detection of intercellular basic proteins in unseparated peripheral blood and bone marrow eosinophils. *Journal of Immunological Methods* 190 (1996)): 245-254.

107.- Elsner-J, Opperman, Czech W, Schöpf E, Kapp A. Effect of the complement

split product C3A on the activation of eosinophils. International Congress of Allergology and Clinical Immunology (15. 1994 Stocholm, Sweden) : Abstracts XV International Congress of Allergology and Clinical Immunology (Stockolm, June 26-July 1, 1994); Suppl. 2; (199): 57.

108.- Takafuji Shigeru, Tadokoro Kenji, Dahinden Clemens A. Degranulation from human eosinophils stimulated with C3a and C5a. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1994; 104 (Suppl 1): 27-29.

109.- Aldebert D, Lamkhioued B, Desaint C, Gouni AS, Goldman M, Capron A. Eosinophils express a fuctional receptor for interferon alpha: inhibitory role of interferon alpha on the release of mediators. *Blood* 1996 Mar 15; 87 (6): 2354-60.

110.- Kuo H-P, Yu T-R, Yu C-T. Correlación entre la presencia de eosinófilos hipodensos con la gravedad clínica del asma, la hiperactividad bronquial y la respuesta al tratamiento con glucocorticoides inhalados=Hypodense eosinophil number relates to clinical severity, airway hyperresponiveness and response to inhaled corticosteroids in asthmatics subjects. *The European Respiratory Journal* 1994; 7: 1452-1459.

111.- Hoshi H, Ohno I, Honma M, Tanno Y, Yamauchy IK, Tamura G, Shirato K. Análisis inmunocitoquímico de IL-5 , IL-8 y Gm-CSF en las celulas del esputo en el asma bronquial y la bronquitis crónica=Il-5, IL-8 and Cm-CSF immunostaining of sputum cells in bronchial asthma and cronic bronchitis. *Clinical and Experimental Allergy* 1995; 25: 720-8.

112.- Shult PA, Lega M, Jadidi S, Vrtis R, Warner T, Graziano FM, Busse WW. The presence of hypodense eosinophils and diminished chemiluminescence

response in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1988 Feb; 81 (2): 429-37.

113.- Chanez P, Bousquet J, Couret I, Cornillac L, Barneon G, Vic P, Michel FB, Godard P. Increased numbers of hypodense alveolar macrophages in patients with bronchial asthma. *Am-Rev-Respir-Dis*. 1991 Oct; 144 (4): 923-30.

114.- Klopogge-E de, Leeuw AJ, Monchy JG de, Kauffman HF. Hypodense eosinophilic granulocytes in normal individuals and patients with asthma: generation of hypodense cell populations in vitro. *J-Allergy-Clin-Immunol* 1989 Feb; 83 (2 Pt 1): 393-400.

115.- Yukawa-T, Kroegel C, Evans P, Fukuda T, Chung KF, Barnes PJ. Density heterogeneity of eosinophil leucocytes: induction of hypodense eosinophils by platelet-activating factor. *Immunology* 1989 Sep; 68 (1): 140-3.

116.- Owen-WF, Rothemberg ME, Silberstein DS, Gasson JC, Stevens RL, Austen KF, Soberman RJ. Regulation of human eosinophil viability, density and function by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in the presence of 3T3 fibroblasts. *J-Exp-Med*. 1987 Jul 1; 166 (1): 129-41.

117.- Makino Sohei, Fukuda Takeshi. Eosinófilos y alergia en el asma. *Allergy Proceedings*, Vol. IX N° 4- Julio-Agosto 1995: 19-27.

118.- Kakazu-T, Chijara J, Saito A, Nakajima S. Effect of cytonike RANTES on induction of activated eosinophils. *Nippon-Kyobu-Shikkan-Gakkai-Zasshi* 1995 Nov; 33 (11): 1226-32.

119.- Burrell BA, Payan DG, Goetzl EJ. Mediadores de la hipersensibilidad y la

inflamación derivados del ácido araquidónico, en *Alergia Principios y práctica* Middleton E, Reed CE, Salvat de. 1985 155-68.

120.- Takafuji- S, Ohtoshi T, Takizawa H, Tadokoro K, Ito K. Eosinophil degranulation in the presence of bronchial epithelial cells.Effect of cytokines and role of adhesion. *J Immunol* 1996 May 15; 156 (10): 3980-5.

121.- Hernnas-J, Sarnstrand B, Lindroth P, peterson CG, venge P, Malmstrom A. Eosinophil cationic protein alters proteoglycan metabolism in human lung fibroblast cultures. *Eur -J-cell-Biol.* 1992 Dec; 59 (2): 352-63.

122.- Dubuske Lawrence M. Introducción: Análisis de mediadores y modulación de la inflamación en el asma. *Allergy Proceedings*, Vol. IX N° 5- Septiembre-Octubre 1995: 1-4.

123.- Bousquet J, Pascal CH, Lacoste JY, Enander I, Venge P, Peterson C, Ahlstedt S, Michel, FB. Indirect evidence of bronchial inflammation assessed by titration of inflammatory mediators in BAL fluid of patients with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol* October 1991: 649-660.

124.- Ulrik CS, Frederiksen J. Mortality and markers of risk of asthma death among 1,075 outpatients with asthma. *Chest* 1995;108:10-5.

125.- Wantke F, Demmer CM, Gotz M, Jarisch R. Changes in serum ECP levels after storage at room temperature. *Allergy.* 1994 Jul; 49 (6): 483-4.

126.- Vastola M.B, Berté-F, Girbino G. Effect of clotting time on ECP blood concentration. *International Congress of Allergoloy and Clinical Immunology* (15.

1994 Stocholm, Sweden): Abstracts XV International Congress of Allergology and Clinical Immunology (Stockolm, June 26-July 1, 1994); Suppl. 2; (194): 55.

127.- Robinson DS, Durham SR, Kay AB. Eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil protein X (EPX) in serum and bronchoalveolar lavage in atopic asthma. International Congress of Allergology and Clinical Immunology (15. 1994 Stocholm, Sweden): Abstracts XV International Congress of Allergology and Clinical Immunology (Stockolm, June 26-July 1, 1994); Suppl. 2; (206): 58.

128.- Koller DY, Herouy Y, Gotz M, Hagel E, Urbanek R. Clinical value of monitoring eosinophil activity in asthma. Arch-Dis-Child 19995 Nov; 73 (5): 413-7.

129.- Kleinau-I, Niggemann-B, Wahn-U. Individual time-courses of ECP and EXP during allergen provocation tests in asthmatic children. Pediatr-Allergy-Immunol 1995 May; 6 (2): 109-18.

130.- Koller DY, Herouy Y, Götz M, Hagel H, Urbanek R, Eichler. Clinical value of monitoring eosiniophil activity in asthma. Archives of Disease of Chilhood 1995; 73 : 413-417.

131.- Hedlin G, Holmgren D, Wille S, Hakansson L, Venge P. Eosinophil cationic protein-levels in serum in children with asthma after longterm treatment with inhaled budesonde and immunotherapy. International Congress of Allergoloy and Clinical Immunology (15. 1994 Stocholm, Sweden): Abstracts XV International Congress of Allergology and Clinical Immunology (Stockolm, June 26-July 1, 1994); Suppl. 2; (68) : 19.

132.- Carlsen KCL, Halvorsen R, Ahlstedt S, Carlsen KH. Eosinophil cationic

protein and tidal flow volume loops in children 0-2 years of age. *Eur Respir J* 1995; 8: 1148-54.

133.- Garofalo R, Kimpen JLL, Welliver RC, Ogra PL. Eosinophil degranulation in the respiratory tract during naturally acquired respiratory syncytial virus infection. *J Pediatric* 1992; 120: 28-32.

134.- Reijonen TM, Korppi M, Kuikka L, Savolainen K, Kleemola M, Mononen I, Remes K. Serum eosinophil cationic protein as predictor of wheezing after bronchiolitis. *Pediatr. Pulmonol* 1997 Jun; 23(6) : 397-403.

135.- Koller DY, Wojnarowski C, Herkner KR, Weinlander G, Raderer M, Eichler I, Frischer T. High levels of eosinophil cationic protein in weezing infants predict the development of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1997 Jun; 99 (6 Pt 1): 752-6.

136.- Oymar K, Elsayed S, Bjerkness R. Serum eosinophil cationic protein and interleukin-5 in children with bronquial asthma and acute bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 1996 Nov; 7 (4): 180-6.

137.- Reijonen TM, Korppi M, Kuikka L, Savolainen K, Kleemola M, Mononen I, Remes K. Nasopharyngeal eosinophil cationic protein in bronchiolitis: relation to viral findings and subsequent wheezing. *Pediatr. Pulmonol* 1997 Jul; 24 (1): 35-41.

138.- Venge P, Dahl R. Are blood eosinophil number and activity important for the development of the late asthmatic reaction after allergen challenge ?. *Eur Respir J.* 1989, 2, 6: 430s-433s.

- 139.- Laitinen Annika, Laitinen Lauri A. Anatomía patológica del asma. *Allergy Proceedings*, Vol. IX nº 3- Mayo-Junio 1995: 60-65.
- 140.- Montefort S, Roche WR, Howarth PH, Djukanovic R, Gratziau C, Carroll M. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) expression in the bronchial mucosa of normal and asthmatic subjects. *Eur-Respir-J* 1992 May; 5 (7): 815-23.
- 141.- Virchow JC, Holscher U, Virchow C. Sputum ECP levels correlate with parameters of airflow obstruction. *Am-Rev-Respir-Dis*. 1992 Sep; 146(3): 604-6.
- 142.- Möller G.M, Overbeek SE, Van Helden-Meeuwsen CG, Prens EP, Postma SE. Effects of long-term inhaled corticosteroids on bronchial hyperreactivity and eosinophils in bronchial biopsies of patients with allergic asthma. *International Congress of Allergology and Clinical Immunology* (15. 1994 Stocholm, Sweden) : Abstracts XV International Congress of Allergology and Clinical Immunology (Stockolm, June 26-July 1, 1994); Suppl. 2; (63): 18.
- 143.- West JB. Pruebas de función pulmonar y su significado. En *Fisiopatología pulmonar*. Ed Médica Panamericana 1994 Buenos Aires:13-47.
- 144.- LM Taussig and PJ Helmes. Introduction. En *Infant Respiratory Function Testing*. Wiley-Liss, Inc 1996 Canada: 1-44.
- 145.- Silverman M, Prendiville A, Green S. Partial expiratory flow-volume curves in infancy: technical aspects. *Eur Physiopathol Respir* 1986; 22: 257-62.
- 146.- Clarke JR, Reese A, Silverman M. Bronchial responsiveness and lung

function in infants with lower respiratory tract illness over the first six months of live. Arch Dis Child 1992; 67: 1454-8.

147.- Stocks J, Beardsmore C, Helms P. Infant lung function: Measurement conditions and equipment. Eur Respir J 1989; 2 Suppl 4: 123s-9s.

148.- Hanrahan JP, Tager IB, Castile RG, Segal MR, Weiss ST, Speizer FE. Pulmonary function measures in health infants. Am Rev Respir Dis 1990; 144: 1127-35.

149.- Allen JL, Castile RG. Infant pulmonary function testing workshop I Boston, Massachusetts, USA, May 19, 1990. Pediatr Pulmonol 1991; 10: 214-8.

150.- Rabbette PS, Dezateux CA, Fletcher ME, Costeloe KL, Stocks J. Influence of sedation on the Hering-Breuer inflation reflex in healthy infants. Pediatr Pulmonol 1991; 11: 217-22.

151.- West JB. Función del pulmón en la enfermedad. Enfermedades obstructivas en Fisiopatología pulmonar. Ed. Médica Panamericana 1994: Buenos Aires: 63-91.

152.- Lesouëf, R Castile , DJ Turner, E Motoyama, and WJ Morgan. Forced expiratory maneuvers. En Infant Respiratory Fuction Testing. Wiley-Liss, Inc 1996 Canada: 379-409.

153.- Young S, O'Keeffe PT, Arnott J, Landau LI. Lung function, airway responsiveness, and respiratory symptoms befor and after bronchiolitis. Arch Dis Child 1995 Jan; 72 (1): 16-24.

- 154.- Turner DJ, Morgan SE, Landau LI, LeSouef PN. Methodological aspects of flow-volume studies in infants. *Pediatr Pulmonol* 1990; 8 (4): 289-93.
- 155.- Jackson EA, Rabbette PS, Dezateux C, Hatch DJ, Stocks J. The effect of triclofos sodium sedation on respiratory rate, oxygen saturation, and heart rate in infants and young children. *Pediatr Pulmonol* 1991; 10: 40-5.
- 156.- Mallol J, Sly PD. Effect of chloral hydrate on arterial oxygen saturation in wezzy infants. *Pediatr Pulmonol* 1988 5 (2); 96-9.
- 157.- Martínez Gimeno A, Lopez-Silvarrey A, Villa Asensi JR, Marin Ferrer M, García Hernández G, Nogales Espert A. Normal values of partial forced expiratory flow volume curves in spanish infants. *Eur Respir J* 1994; 7 (Supl 18): 220s.
- 158.- Stick S. Measurement during tidal breathing. En *Infant Respiratory Function Testing*. Wiley-Liss, Inc 1996 Canada: 117-38
- 159.- Lowell DI, Lister G, Von Koss H, McCarthy P., Wheezing in Infants: The Response to Epinephrine. *Pediatrics* 1987. Vol.79: 939-45.
- 160.- Poets CF and Martin RJ. Noninvasive determination of Blood Gases. En *Infant Respiratory Function Testing*. Wiley-Liss, Inc 1996 Canada: 411-44.
- 161.- Manual del usuario de Pharmacia. Ab, Uppsala, (Sweden).
- 162.- Martínez Gimeno A, Lopez-Silvarrey A, Villa Asensi JR, Marin Ferrer M, García Hernández G, Nogales Espert. Normal values of total respiratory sistem compliance and resistance measured by single end-inspiratory occlusion test in spanish infant. *Pediatr Res J* 1994; 7 (suppl. 18): 180s. (Presentado en: European

Respiratory Society annual congress. Niza, Octubre de 1994).

163.- Sorkness R, Lemanske RF Jr., Castelman WL. Resitent airway hiperresponsiveness after neonatal viral bronchiolitis in rats. American Phisyological Society 1991: 375-83.

164.- Schuh S, Canny G, Reisman JJ, Jerem E, Bentur L, Petric M, Levison H. Nebulized albuterol in acute bronchiolitis. J Pediatr 1990; 117: 633-7.

165.- Fiz JA, Morera J. Análisis de los sonidos respiratorios: Enfermedades obstructivas I 1996: 1: 23-28. Fundación Promedic.

166.- O'Callaghan C, Milner AD, Swarbrick A. Paradoxical deterioration in lung function after nebulised salbutamol in wheezy infants. Lancet 1986; December, 20-7.

167.- Tepper RS, Rosenberg D, Eigen H. Airway responsiveness in infants following bronchiolitis. Pediatr Pulmonol 1992 May; 13 (1): 6-10.

168.- Martínez Gimeno A, Gonzalez Caballero MD, López-Silvarrey A, Villa Asensi JR, Marini Ferrer M, García Hernandez G, Nogales Espert. Respiratory mechanichs in infants with a acute bronchiolitis. Pediatr Res 1994; 36:51ª. (Presentada en : Pediatric Week-European Respiratory Society. Holanda 1994).

169.- Martínez FD. Viral infection and the development of asthma. Am J. Respir Crit care Med 1995 May ; 151(5): 1644-7.

170.- Counil-FP, Lebel-B, Segondy-M, Peterson-C, Voisin-M, Bousquet-J, Arnoux-

B. Cells and mediator from pharyngeal secretions in infants with acute weezing episodes. *Eur Respir J.* 1997 Nov; 10 (11): 2591-5

171.- Sigurs N, Bjarnsaon R, Sigurbergsson F. Eosinophil cationic protein in nasal secretion and in serum and myeloperoxidase in serum in respiratory syncytial virus bronchiolitis: relation to asthma and atopy. *Acta Paediatr.* 1994 Nov; 83 (11): 1151-5.

172.- Colucho-Celaya-EA, Orvell-C, Strennegard-O. Eosinophil cationic protein in nasopharyngeal secretions and serum of infants infected with respiratory syncytial virus. *Pediatr Allergy Immunol.* 1994 May; 5 (2): 100-6.

173.- Garofalo-R, Dorris-A, Ahlstedt-S, Welliver-RC. Periferal blood eosinophil counts and eosinophil cationic protein content of respiratory secretions in bronchiolitis: relationship to severity of disease. *Pediatr Allergy Immunol.* 1994 May; 5(2): 111-7.

174.- Ingram-JM, Rakes-GP, Hoover-GE, Platts-Mills-TA, Heymann-PW. Eosinophil cationic protein in serum and nasal washes from weezing infants and children. *J Pediatr.* 1995 Oct; 127(4): 558-64.

175.- Takahashi-Y, Okamura-A, Yasoshima-K, Koite-A. Serum eosinophil cationic protein in infants during first weezing episode. *Arerugi.* 1996 Nov; 45(11): 1161-5.

